

Relatório Final de Estágio

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

TAREFAS DO MÉDICO VETERINÁRIO OFICIAL

LINFADENITE TUBERCULOSA SUÍNA

Bebiana Dias Enguião

Orientadora

Eduarda Maria Freitas Gomes da Silva Neves

Co-Orientadora

Anabela Antunes Costa

Porto 2013

Relatório Final de Estágio

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

TAREFAS DO MÉDICO VETERINÁRIO OFICIAL

LINFADENITE TUBERCULOSA SUÍNA

Bebiana Dias Enguião

Orientadora

Eduarda Maria Freitas Gomes da Silva Neves

Co-Orientadora

Anabela Antunes Costa

Porto 2013

Resumo

A Inspeção Sanitária é a atividade desenvolvida por Médicos Veterinários e Auxiliares Oficiais em estabelecimentos de abate e de desmancha de carnes, e inclui tarefas de auditoria e de inspeção. O seu principal objetivo é a proteção da saúde do consumidor por meio de medidas coerentes em toda a cadeia alimentar, não descurando as questões relativas à saúde e bem-estar animal.

O presente trabalho refere as principais atividades desenvolvidas, no âmbito do estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, no período de 2 de Novembro a 22 de Fevereiro, nas áreas de intervenção da Divisão de Alimentação e Veterinária de Aveiro (DAVA).

Durante o estágio foi possibilitado o acompanhamento das rotinas e procedimentos de atuação do Médico Veterinário Oficial (MVO), em vários centros de abate, sites na região de Aveiro, com registo da casuística observada.

Paralelamente foi estabelecida colaboração nas recolhas de material inerentes à execução do Plano Nacional de Controlo de Resíduos (PNCR) e Plano de Inspeção dos Géneros Alimentícios (PIGA). Efetuaram-se, igualmente, vistorias no âmbito do Plano de Aprovação e Controlo dos Estabelecimentos (PACE), constatando-se a observância dos requisitos técnico-funcionais presentes nas listas de verificação disponíveis.

O objetivo do estágio foi a aquisição de competências para o exercício desta atividade, integrando os conhecimentos previamente adquiridos, e compreender como atua, em termos legais e científicos, a Inspeção Sanitária em Portugal.

No decurso do estágio no Matadouro da Beira Litoral (MBL), observou-se uma elevada ocorrência de lesões ganglionares granulomatosas na linha de abate de suínos. Tal suscitou particular interesse, dando mote à terceira parte do trabalho, onde se procura determinar se o agente etiológico envolvido pertence ao complexo *Mycobacterium avium* (MAC), assim como relacionar o diagnóstico visual com o laboratorial, por meio de técnicas de histopatologia e bacteriologia.

Agradecimentos

Manifesto o meu sincero reconhecimento e gratidão a todos os familiares, amigos e professores que, direta ou indiretamente, contribuíram para o meu percurso académico e me têm proporcionado uma aprendizagem de carácter pessoal, profissional e cultural.

Um agradecimento especial,

À Professora Doutora Eduarda Neves, cuja orientação motivadora proporcionou experiências e conhecimentos além dos objetivos do meu estágio curricular, e por toda a disponibilidade, ensinamentos e apoio dedicados;

À Doutora Anabela Costa que permitiu uma abordagem ampla às atividades do MVO, possibilitando o acompanhamento dos atos inspetivos nos diferentes estabelecimentos, e por toda a disponibilidade, ensinamentos e tempo dedicados;

À Professora Doutora Fátima Gartner e ao Professor Doutor José Manuel Costa por prontamente se disponibilizarem e facultarem todos os meios necessários à realização do trabalho laboratorial.

Agradeço a todos aqueles que durante o meu estágio curricular comigo se cruzaram, generosamente me acolheram, me transmitiram conhecimentos ou de alguma forma contribuíram positivamente para o meu estágio:

À Dra. Joana, Dr. Juan, Dra. Ana Neves, Dr. Pedro, Dr. André, Dra. Dora, Dra. Liliana Eng^a Susana, Eng^a Graça, Eng^a Laura, Eng^o Álvaro, Eng^o Luzio, Eng^o Pedro e funcionários do Matadouro da Beira Litoral;

À Dra. Ana Canadas, à Dra. Irina, à técnica de anatomia patológica Alexandra Rêma e às estagiárias Daniela e Soraia do Laboratório de Diagnóstico Histopatológico do ICBAS;

À Dra. Anabela Silva e à técnica de análises clínicas Cristina do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge.

Graças a todos vocês o estágio superou as minhas expectativas e sinto-me mais confiante e preparada para esta profissão!

Lista de Abreviaturas

ABVT - Azoto Básico Volátil Total

ATMA - Azoto Trimetilamínico

BAAR - Bacilos álcool-ácido resistentes

DAVA – Divisão de Alimentação e Veterinária de Aveiro

DDO – Doença de Declaração Obrigatória

DGAV- Direção Geral de Alimentação e Veterinária

EET - Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis

EFSA – do inglês “European Food Safety Authority” (Autoridade Europeia de Segurança Alimentar)

HE – Hematoxilina Eosina

HIV – do inglês “Human Immunodeficiency Virus” (Vírus da Imunodeficiência Humana)

INSA - Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge.

IS.-. do inglês “Insertion Sequences” (Sequências de Inserção)

LMR – Limites Máximos de Resíduos

LTS - Linfadenite Tuberculosa Suína

M. avium – *Mycobacterium avium*

MAA - *Mycobacterium avium avium*

MAC – do inglês “*Mycobacterium Avium Complex*” (Complexo *Mycobacterium avium*)

MAH - *Mycobacterium avium hominissuis*

MBL – MBL

MRE - Matérias de Risco Especificado

MVO- Médico Veterinário Oficial

NCV - Número de Controlo Veterinário

PACE – Plano de Aprovação e Controlo dos Estabelecimentos

PAS – Ácido Periódico de Schiff

PCR – Reação de Polimerização em Cadeia

PIGA – Plano de Inspeção dos Géneros Alimentícios

PNCR – Plano Nacional de Controlo de Resíduos

RFLP – do inglês “Restriction Fragment Length Polymorphism” (Polimorfismo no comprimento de fragmentos de restrição)

ROG – Reação Orgânica Geral

SIPACE - Sistema de Informação do Plano de Aprovação e Controlo de Estabelecimentos

UTS- Unidade de Transformação de Subprodutos

ZN - Ziehl-Neelsen

Índice

Resumo.....	ii
Agradecimentos.....	iii
Lista de Abreviaturas.....	iv
1. Atividades desenvolvidas.....	1
1.1. Tarefas de auditoria.....	1
1.1.1. Plano Nacional de Controlo de Resíduos (PNCR).....	1
1.1.2. Plano de Inspeção dos Géneros Alimentícios (PIGA).....	3
1.1.3. Plano de Aprovação e Controlo de Estabelecimentos (PACE).....	4
1.2. Tarefas de inspeção.....	5
1.2.1. Inspeção do pescado.....	5
1.2.2. Inspeção da carne fresca.....	6
2. Principais resultados da Inspeção <i>post mortem</i>	9
2.1. Reprovações Totais.....	10
2.1.1. Ungulados.....	10
2.1.2. Lagomorfos.....	12
2.1.3. Aves.....	13
2.2. Reprovações parciais.....	14
3. Linfadenite Tuberculosa Suína.....	17
3.1. Introdução.....	17
3.1.1. Género <i>Mycobacterium</i> - Complexo <i>Mycobacterium avium</i> (MAC).....	19
3.2. Material e métodos.....	20
3.2.1. Histologia.....	21
3.2.2. Bacteriologia.....	21
3.3. Resultados.....	22
3.4. Discussão.....	24
Conclusão.....	26
Referências bibliográficas.....	28
ANEXO I – Documentação referente aos animais expedidos.....	31
ANEXO II - Mapa de exame em vida.....	33
ANEXO III - Declaração veterinária para abate especial de emergência.....	34
ANEXO IV - Protocolo obrigatório de inspeção <i>post mortem</i>	35
ANEXO V - Mapa diário de rejeições.....	36
ANEXO VI - Técnicas de coloração.....	37
ANEXO VII - Técnicas de descontaminação e homogeneização (<i>Mycobacterium</i>).....	38

1. Atividades desenvolvidas

Durante o período de estágio na DAVA, sob co-orientação da Doutora Anabela Costa, foi possibilitado o acompanhamento das rotinas e procedimentos de atuação do MVO. Deste modo, e em paralelo com os atos inspetivos, realizaram-se colheitas de amostras, em matadouros, inerentes à execução do Plano Nacional de Controlo de Resíduos (PNCR), assim como recolhas de géneros alimentícios, em estabelecimentos de transformação de produtos primários de origem animal, no âmbito do Plano de Inspeção dos Géneros Alimentícios (PIGA). Efetuaram-se, igualmente, vistorias no âmbito do Plano de Aprovação e Controlo dos Estabelecimentos (PACE), nomeadamente a uma unidade técnica de curtumes, a instalações de limpeza e desinfeção de meios de transporte utilizados no transporte de animais vivos, a estabelecimentos de produção e comercialização de leitões assados e a navios de pesca por arrasto.

O acompanhamento dos atos inspetivos, por sua vez, decorreu em vários centros de abate, sítios na região de Aveiro, designadamente centro de abate de coelhos “Joaquim Jesus Ramos” em Estarreja, centro de abate de aves “Hilário Santos & Filhos” em Pardilhó, “Matadouro da Beira Litoral, S.A.” na zona industrial da Taboeira, “Restaurante Abílio Marques” em Bomsucesso, Iota de Aveiro e, na Bairrada, “Evasão Animal - Comércio de Leitões Lda” e “PIC-NIC dos Leitões”. No decurso do estágio inspecionaram-se 1505 bovinos, 9281 suínos 1525 leitões, 654 pequenos ruminantes, 202770 frangos e 25161 coelhos.

Os controlos oficiais dos alimentos de origem animal destinados ao consumo humano e os procedimentos de atuação do MVO estão legislados pelo Regulamento (CE) n.º 854/2004 e pelo Regulamento (CE) n.º 882/2004, bem como por outros diplomas comunitários e nacionais (e suas atualizações), em vigor, que se entendam utilizáveis.

1.1. Tarefas de auditoria

1.1.1. Plano Nacional de Controlo de Resíduos (PNCR)

Os operadores das empresas do setor alimentar têm a responsabilidade de garantir que os produtos de origem animal cumprem a legislação sobre resíduos, contaminantes e substâncias proibidas, dando cumprimento ao disposto no Decreto-Lei n.º 148/99 de 4 de Maio, relativo às medidas de controlo a aplicar a certas substâncias e aos seus resíduos em animais vivos e respetivos produtos, e no Decreto-Lei n.º 185/2005 de 4 de Novembro, relativo à proibição de utilização de certas substâncias com efeitos hormonais ou tireostáticos e de substâncias beta-agonistas em produção animal.

O PNCR é realizado anualmente em Portugal desde 1990 e tem como objetivos detetar a administração ilegal de substâncias proibidas e a administração abusiva de substâncias

autorizadas, confrontar os resíduos de medicamentos veterinários com os limites máximos de resíduos (LMR) estipulados no Regulamento (UE) n.º 37/2010 de 22 de Dezembro de 2009, e controlar a concentração dos contaminantes ambientais (Regulamento (CE) n.º 1881/2006 de 22 de Dezembro de 2009 e Regulamento (CE) n.º 396/2005 do Parlamento Europeu e do Conselho de 23 de Fevereiro) (DGV/PNCR, 2011).

Para a execução do plano estão estabelecidas recolhas periódicas e aleatórias efetuadas nas explorações pecuárias e matadouros e, também, sempre que o MVO suspeite da sua presença com base nos resultados da inspeção *ante mortem*.

O PNCR engloba a pesquisa de resíduos nos bovinos, ovinos, caprinos, suínos, equinos, aves, produtos de aquacultura, coelhos, caça de criação (codornizes), caça selvagem (javalis e veados), ovos, leite e mel (DGV/PNCR, 2011).

De acordo com o Decreto-Lei n.º 148/99, as pesquisas efetuadas incidem sobre dois grandes grupos de substâncias, designadamente, **Grupo A** que inclui as substâncias com efeito anabolizante e substâncias não autorizadas, e **Grupo B** que compreende os medicamentos veterinários e contaminantes.

Relativamente à frequência, as colheitas de amostras devem obedecer a um número mínimo de animais, tendo em conta o número de animais abatidos e a produção do ano anterior, cumprindo o estipulado no Anexo IV do Decreto-Lei n.º 148/99. O tipo de matriz e a quantidade a colher para a pesquisa de cada grupo de resíduos têm em conta os órgãos-alvo e os métodos analíticos existentes para o efeito (DGV/PNCR, 2011).

Quando a suspeita surge no matadouro, o MVO poderá reter oficialmente as carcaças e miudezas, procedendo a todas as colheitas de amostras necessárias para detetar a presença de substâncias não autorizadas, ou adiar o abate dos animais até estar seguro que a quantidade de resíduos já não excede o LMR. Se o adiamento não for exequível, estes podem ser abatidos, sendo as carnes e miudezas retidas oficialmente, enquanto se aguardam os resultados dos controlos oficiais (artigo 24º, capítulo V do Decreto-Lei n.º 148/99).

Quando detetadas substâncias a um nível que excede o LMR, a DGAV manda efetuar um inquérito que visa averiguar as razões que levaram a exceder tal limite e dá origem a um processo de contra-ordenação. Sempre que os resultados evidenciem que foi excedido um LMR deve proceder-se à retirada das carcaças ou produtos em causa para consumo humano (artigo 18.º, capítulo IV do Decreto-Lei 148/99). Os produtos de origem animal que contenham resíduos de medicamentos veterinários e contaminantes, enumerados nos pontos 1 e 2 do grupo B do anexo I do Decreto-Lei n.º 148/99, são considerados matérias de categoria 2, com o destino previsto no artigo 13º do Regulamento (CE) n.º 1069/2009, de 21 de Outubro.

No caso dos contaminantes, é realizado um inquérito epidemiológico que visa a identificação da origem do problema e procede-se à retirada das carcaças ou produtos em questão

(DGV/PNCR, 2011). Os produtos derivados de animais que contenham resíduos de contaminantes ambientais e outras substâncias enumeradas no ponto 3 do grupo B do anexo I do Decreto-Lei n.º 148/99, são considerados matérias de categoria 1, tendo o destino previsto no artigo 12º do Regulamento (CE) n. 1069/2009.

Perante resultados positivos a substâncias incluídas no Grupo A, as explorações em causa são colocadas sob sequestro (artigo 17.º, capítulo IV do Decreto-Lei 148/99) e efetuam-se novas análises aos animais, água e alimentos, de modo a esclarecer a origem das substâncias. Os animais considerados positivos serão abatidos, sendo as carcaças destes animais entregues a uma unidade transformadora de subprodutos (UTS) de categoria 1 (artigo 23.º, capítulo V do Decreto-Lei 148/99). Somente quando os resultados analíticos forem todos negativos, é que se deixa de fazer controlo oficial na respetiva exploração, seguindo-se o processo de contra-ordenação (DGV, 2009).

1.1.2. Plano de Inspeção dos Géneros Alimentícios (PIGA)

A DGAV tem nas suas competências a implementação do PIGA. Este tem por base a Diretiva (CE) n.º 2003/99, de 17 de Novembro, relativa à vigilância das zoonoses e agentes zoonóticos, o Regulamento (CE) n.º 1441/2007, de 5 de Dezembro, relativo aos critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios, e ainda o Regulamento n.º 853/2004, de 29 de Abril, no que concerne aos critérios de higiene. Este plano consiste num sistema de vigilância que visa analisar os riscos microbiológicos nos géneros alimentícios de origem animal.

Os principais objetivos do PIGA são a vigilância de zoonoses e agentes zoonóticos, das resistências antimicrobianas, verificar a conformidade dos critérios de segurança dos alimentos prontos para consumo e investigação epidemiológica dos focos patogénicos de origem alimentar.

As colheitas são executadas em todos os estabelecimentos que laborem produtos alimentares de origem animal, sendo realizadas pela Autoridade Competente Nacional, com ou sem aviso prévio.

O plano é adaptado anualmente de acordo com a avaliação de risco. A matriz e critérios microbiológicos a pesquisar são definidos tendo em conta a produção nacional de géneros alimentícios de origem animal, os resultados dos planos anteriores, os relatórios anuais da EFSA sobre zoonoses, agentes zoonóticos, resistências antimicrobianas e surtos de origem alimentar na União Europeia.

Em caso de positividade a parâmetros com critério de segurança ou agentes com elevado impacto para a saúde pública, o operador deve ser notificado para retirar o produto do mercado e destruí-lo, encaminhando-o para uma UTS. No entanto, se ainda não tiver colocado o produto no mercado, a autoridade competente pode autorizar o seu reprocessamento desde que seja

eliminado o perigo identificado. O operador é também notificado com a intenção de determinar a causa do incumprimento e reforçar as medidas de higiene e rever o plano de HACCP.

No caso de positividade a parâmetros com critérios de higiene ou agentes com impacto moderado para a saúde pública, notifica-se o operador para determinar a causa do incumprimento, reforçar as medidas de higiene e rever o plano HACCP (DGV/DSHPV/PIGA, 2009).

1.1.3. Plano de Aprovação e Controlo de Estabelecimentos (PACE)

A implementação do PACE, iniciada em 2007, visa a observância dos requisitos técnico-funcionais em estabelecimentos aprovados que laboram produtos e subprodutos de origem animal nas fases de produção, transformação, distribuição e colocação no mercado (DGAV/DSHPV, 2012-2016).

No âmbito do plano em apreço realizam-se vistorias que prevêm uma apreciação global da conformidade e a identificação dos incumprimentos, tendo como base a lista de verificação referente à atividade ou género alimentício. As vistorias são determinantes na decisão sobre a manutenção do NCV, estabelecendo-se, eventualmente, condições e prazos para correção das inconformidades detetadas. No auto de vistoria, constarão as irregularidades encontradas juntamente com a respetiva fundamentação de direito (DGAV/DSHPV, 2012-2016).

Relativamente à natureza e periodicidade das intervenções do PACE, estas dependem do **risco estimado** para cada estabelecimento, avaliado com base nos riscos para a saúde pública e animal, no tipo e capacidade dos processos realizados, nos antecedentes do operador relativamente ao cumprimento da legislação alimentar, e no caso dos matadouros, nos aspetos relativos ao bem-estar dos animais (n.º 9 do artigo 4.º do Regulamento (CE) n.º 854/2004, de 29 de Abril). Assim, consideram-se 4 tipos de estabelecimentos (tabela 1), cuja frequência de visita será determinada pelo risco estimado, sendo que as visitas devem, preferencialmente, ser efetuadas sem aviso prévio (DGAV/DSHPV, 2012-2016).

Risco estimado	Tipo de estabelecimento	Prazo entre visitas
4	Alto risco	6 meses
3	Médio risco	12 meses
2	Baixo risco	18 meses
1	Muito baixo risco	24 meses

Tabela 1 - Definição da periodicidade de visita de acordo com o risco estimado (adaptado de DGAV/DSHPV, 2012-2016)

O **risco estimado** dos estabelecimentos com NCV resulta da média de 3 indicadores: o risco associado à dimensão, o risco associado à atividade e o grau de (in)cumprimento.

O **risco associado à dimensão** é predefinido para cada estabelecimento por adoção dos critérios da Portaria 464/2003, de 6 de Junho. Os estabelecimentos industriais são

classificados de 1 a 4, tendo em consideração o grau de risco potencial para o Homem e o ambiente, refletindo, deste modo, a capacidade produtiva dos mesmos.

O **risco associado à atividade** está relacionado com o grau de manipulação dos produtos e com a probabilidade das operações gerarem riscos significativos para o consumidor (DGAV/DSHPV, 2012-2016).

O **grau de (in)cumprimento** é definido pelo maior grau atribuído (tabela 2) aos indicadores considerados fundamentais na avaliação do funcionamento dos estabelecimentos de géneros alimentícios ou de subprodutos (DGAV/DSHPV, 2012-2016). Tais indicadores constam na lista de verificação correspondente à atividade ou género alimentício.

Grau	Tipo	Descrição
1	Ausência	Em conformidade
2	Menor	Não põe em causa a capacidade do sistema de segurança, mas requer correções
3	Maior	Põe em causa a capacidade do sistema de segurança
4	Crítico	Falta total de cumprimento do requisito ou põe em causa a segurança do género alimentício. Falha sistemática e recorrente do mesmo requisito

Tabela 2- Classificação do Grau de Inconformidades (DGAV/DSHPV, 2012-2016)

1.2. Tarefas de inspeção

1.2.1. Inspeção do pescado

Os controlos oficiais de **produção e comercialização** dos produtos da pesca, definidos no Regulamento (CE) n.º 854/2004, envolvem o controlo regular das condições do desembarque e da primeira venda; controlo das condições de armazenamento e transporte e inspeções periódicas dos navios e estabelecimentos em terra.

Os controlos oficiais dos **produtos da pesca**, segundo o mesmo regulamento, devem incluir: exames organoléticos aleatórios e, caso este exame levante qualquer suspeita, eventualmente, determinação do azoto básico volátil total (ABVT) e de azoto trimetilamínico (ATMA); testes aleatórios para pesquisa de histamina para constatar o respeito dos teores nos termos do Regulamento (CE) n.º 1441/2007; controlos microbiológicos de acordo com as regras e os critérios estabelecidos nos termos do Regulamento (CE) n.º 852/2004 e Regulamento (CE) n.º 1441/2007; exame visual para deteção de parasitas (capítulo V, secção VIII, anexo III do Regulamento (CE) n.º 853/2004).

Como referência para as características organoléticas são utilizados o Regulamento (CE) n.º 2406/96, de 26 de Novembro, e a Portaria n.º 559/76, de 7 de Setembro.

O Regulamento (CE) n.º 1022/2008 da Comissão, de 17 de Outubro de 2008, estabelece valores limite de ABVT para algumas categorias de peixe fresco.

Segundo o Regulamento (CE) n.º 854/2004, os produtos da pesca devem ser declarados **impróprios para consumo humano** se os controlos organoléticos, químicos, físicos, microbiológicos ou de parasitas tiverem demonstrado que não cumprem a legislação comunitária; contiverem nas suas partes comestíveis contaminantes ou resíduos em teores superiores aos estabelecidos; forem provenientes de peixes venenosos, produtos da pesca (incluindo moluscos bivalves, equinodermes, tunicados ou gastrópodes marinhos) que contenham biotoxinas marinhas em quantidades totais que excedam os limites referidos no Regulamento (CE) n.º 853/2004; ou, ainda, sempre que a autoridade competente considerar que podem constituir um perigo para a saúde pública ou animal; ou que são, por quaisquer outras razões, impróprios para consumo humano.

1.2.2. Inspeção da carne fresca

De acordo com o Regulamento (CE) n.º 854/2004, anexo I, secção I, capítulo II, relativamente à carne fresca, o MVO tem como tarefas verificar e analisar as informações pertinentes relativas à cadeia alimentar; proceder a uma inspeção *ante mortem* de todos os animais; verificar o respeito pelo bem-estar animal; efetuar uma inspeção *post mortem* de carcaças e vísceras; verificar a remoção, separação e, sempre que adequado, a marcação das matérias de risco especificado (MRE) e outros subprodutos animais; assegurar que sejam recolhidas amostras para vigilância e controlo de zoonoses, diagnóstico de encefalopatias espongiformes transmissíveis (EET), recolha de amostras no âmbito do PNCR e para deteção de doenças da lista da OIE.

Os operadores das empresas do setor alimentar que criam animais destinados ao abate devem assegurar que as **informações relativas à cadeia alimentar**, referidas no Regulamento (CE) n.º 853/2004, são devidamente incluídas na documentação referente aos animais expedidos (ANEXO I). Os animais não devem ser aceites nas instalações do matadouro, caso tais informações não tenham sido recebidas num prazo de pelo menos 24 horas antes da chegada dos animais. Porém, o MVO pode autorizar o abate, mesmo que as informações sobre a cadeia alimentar não estejam disponíveis, tendo estas de ser fornecidas antes de as carcaças serem aprovadas para consumo humano e até 24 horas após a chegada dos animais ao matadouro. Caso contrário, toda a carne desses animais deve ser declarada imprópria para consumo humano (pontos 2 e 3 do capítulo II da secção II do anexo I do Regulamento (CE) n.º 854/2004).

A **inspeção ante mortem** de todos os animais deve ser efetuada num prazo inferior a 24 horas após a sua chegada ao matadouro e menos de 24 horas antes do abate, podendo o MVO efetuar uma inspeção em qualquer outro momento (capítulo II da secção I do anexo I do Regulamento (CE) n.º 854/2004 de 29 de Abril).

Na inspeção *ante mortem* averigua-se a identificação animal, o estado geral, o comportamento, sinais de excitabilidade ou de fadiga, presença de corrimentos através das cavidades naturais ou outras alterações. Tal permitirá separar animais com doenças que não são detetáveis no exame *post mortem*, avaliar o respeito pelo bem-estar animal, identificar os animais que exigem uma manipulação especial durante as operações de abate e tornar o exame *post mortem* mais eficiente, utilizando os dados colhidos no exame em vida. Estas decisões são registadas no Mapa de exame em vida (ANEXO II).

No caso de abate de emergência fora do matadouro, deve-se, ainda, verificar a declaração emitida pelo veterinário da exploração que acompanha o animal (ponto B, capítulo II, secção I, anexo I do Regulamento (CE) n.º 854/2004) (ANEXO III).

A **inspeção *post mortem*** consiste no exame visual, palpação e incisão das estruturas referidas na secção IV do anexo I do Regulamento (CE) n.º 854/2004, podendo o MVO efetuar, sempre que necessário, outras incisões que considere essenciais para tomar a decisão sanitária o mais correta possível. Tais procedimentos encontram-se sintetizados no ANEXO IV do presente relatório. Todas as causas de reprovação resultantes da inspeção, para além de introduzidas no SIPACE (sistema de informação do plano de aprovação e controlo de estabelecimentos), são registadas num mapa diário de rejeições (ANEXO V), com direito do proprietário do(s) animal(ais) reprovado(s) a interpor recurso de acordo com o n.º 2 do artigo 4º do decreto-lei n.º 113/2006, de 12 de Junho.

O MVO deverá estar ciente da obrigatoriedade da notificação dos casos suspeitos das doenças de declaração obrigatória, como foi sucedendo ao longo do estágio com os sucessivos casos de Linfadenite Tuberculosa Suína (LTS), e da eventual necessidade da confirmação laboratorial das mesmas.

O capítulo III da secção I do anexo I do Regulamento (CE) n.º 854/2004, determina que a **marca de salubridade** deve ser aposta somente em carcaças declaradas próprias para consumo após inspeção *ante* e *post mortem*. A sua aposição deve ser efetuada nos matadouros e estabelecimentos de tratamento de caça pelo MVO ou sob a sua responsabilidade. A carne de animais abatidos de emergência fora do matadouro deve ostentar uma marca de salubridade especial (figura 1), de forma circular, não confundível com as marcas de salubridade e de identificação.

O Regulamento (CE) n.º 853/2004, artigo 5º, determina que os operadores das empresas do setor alimentar não podem colocar no mercado produtos de origem animal, a menos que estes detenham uma **marca de identificação**, quando não esteja prevista a aposição da marca de salubridade. Assim, as miudezas dos animais aprovados para consumo, partes desmanchadas que não correspondam às grandes peças e as carcaças de aves e de lagomorfos, devem ostentar uma marca de identificação, aposta de acordo com o previsto no Regulamento (CE)

n.º 853/2004. A marca de identificação pode ser aposta diretamente no produto, no material de acondicionamento ou de embalagem, ou, ainda, no rótulo.

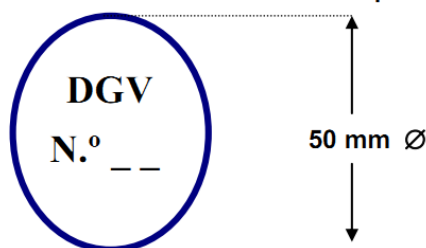


Figura 1 - Marca de salubridade especial

O Regulamento (CE) n.º 1069/2009 de 21 de Outubro, que define regras sanitárias relativas a **subprodutos animais e produtos derivados** não destinados ao consumo humano, atribui aos operadores a responsabilidade na apresentação de provas documentais do correto aproveitamento/eliminação dos subprodutos animais gerados nos estabelecimentos de abate e desmancha. Pela importância do controlo dos mesmos, nomeadamente das MRE, é da responsabilidade da Inspeção Sanitária a supervisão da sua classificação, marcação, pesagem, expedição e destino, bem como o controlo das provas documentais.

As MRE encontram-se explicitadas no anexo XI do Regulamento (CE) n.º 999/2001, de 22 de Maio, que estabelece regras para a prevenção, o controlo e a erradicação de determinadas EET. Estes materiais são removidos dos animais na linha de abate ou instalações de desmancha, seguindo circuitos independentes dos restantes subprodutos, desnaturados com um corante e encaminhados para UTS de categoria 1 (anexo XI do Regulamento (CE) n.º 999/2001). A marcação de salubridade não deve ser aposta na carcaça do animal a testar até se obter um teste rápido com resultado negativo para EET (Regulamento (CE) n.º 999/2001, capítulo A do anexo III).

Todos os matadouros, bem como todos os estabelecimentos de manipulação de caça, devem recolher amostras para **pesquisa de *Trichinella*** em todas as carcaças de animais suscetíveis



Figura 2 - Recolha de músculo de suíno para pesquisa de *trichinella*

(figura 2), nomeadamente suínos, javalis e equídeos (Regulamento (CE) n.º 2075/2005, de 5 de Dezembro). As carcaças que não forem sujeitas a pesquisa de *Trichinella* terão de ser congeladas, conforme o definido no anexo II do Regulamento (CE) n.º 2075/2005, ou serem sujeitas a um tratamento térmico que elimine o seu perigo (Circular n.º 75/2009). No anexo I do Regulamento (CE) n.º 2075/2005, de 5 de Dezembro, estão descritos os métodos usados para pesquisa de *Trichinella*, designadamente exame triquinoscópico e diversos métodos de digestão de

amostras combinadas. O método de detecção de referência consiste na digestão de amostras combinadas utilizando um agitador magnético, porém o método de digestão de amostras combinadas com técnica de sedimentação ainda é bastante utilizado.

Durante o período de estágio, foi estabelecida colaboração na **recolha de amostras para o diagnóstico de EET**, de acordo com o Regulamento (CE) n.º 999/2001. As recolhas efetuadas obedecem ao descrito na Decisão da Execução da Comissão de 17 de Junho de 2011. A colheita dos troncos cerebrais é da responsabilidade do corpo de Inspeção Sanitária do matadouro, assim como a colheita dos pavilhões e marcas auriculares, o seu acondicionamento e destruição, mediante elaboração de um auto para o efeito.

2. Principais resultados da Inspeção *post mortem*

Durante o período de estágio no MBL (cerca de 13 semanas), foram abatidos 1505 bovinos, 9281 suínos, 670 leitões e 654 pequenos ruminantes (tabela 3). Estes valores não correspondem ao abate total naquele período, mas sim ao presenciado. Neste estabelecimento o abate ocorre todos os dias da semana, com exceção da quinta-feira, salvo épocas de maior abate (Páscoa, Verão e Natal). O abate de pequenos ruminantes ocorre às terças-feiras, preferencialmente, e os abates sanitários à sexta-feira.

	Estabelecimento de abate	Abate total	Reprovações Totais	
			Nº.	%
Bovinos	MBL	1505	0	0
Suínos	MBL	9281	32	0,34
Leitões	MBL	670	2	0,30
	Bairrada	479	2	0,42
	Abílio Marques	376	0	0
P. Ruminantes	MBL	654	23	3,5
Frangos	Hilário	202770	3589	1,8
Coelhos	Ramos	25161	294	1,2

Tabela 3 - Distribuição do número total de animais abatidos e reprovações totais, por espécie, durante o período de estágio

Nos matadouros da Bairrada, abateram-se 479 leitões, na única visita realizada. No matadouro “Restaurante Abílio Marques” foram abatidos um total de 376 leitões em 2 dias. Este último matadouro abate, no máximo, 2 dias por semana (quinta e sexta-feira). Relativamente às aves, durante o estágio, efetuaram-se 5 visitas ao matadouro “Hilário & Filhos”, com um total de 202 770 frangos abatidos. Numa dessas visitas houve um abate sanitário de salmonela, com elevados números de rejeição.

No que diz respeito aos coelhos, o valor de 25 161 animais abatidos refere-se a 3 dias de abate, presenciados no centro de abate “Joaquim Jesus Ramos”.

2.1. Reprovações Totais

2.1.1. Ungulados

Como se pode constatar pela tabela 3, durante o período de estágio, nenhum bovino foi reprovado totalmente, porém 32 suínos (0,34%), 4 leitões (0,26%) e 23 pequenos ruminantes (3,5%) foram totalmente reprovados. A maior percentagem de reprovação em pequenos ruminantes justifica-se, em parte, pela reprovação total de 11 ovinos sujeitos a abate sanitário de brucelose.

O gráfico 1 descreve as principais causas de reprovação total em ungulados no MBL. Os dados apresentados para leitões referem-se também às reprovações ocorridas no matadouro da Bairrada – “Evasão Animal”. No matadouro “Pic Nic” e “Restaurante Abílio Marques” nenhum animal foi rejeitado totalmente.

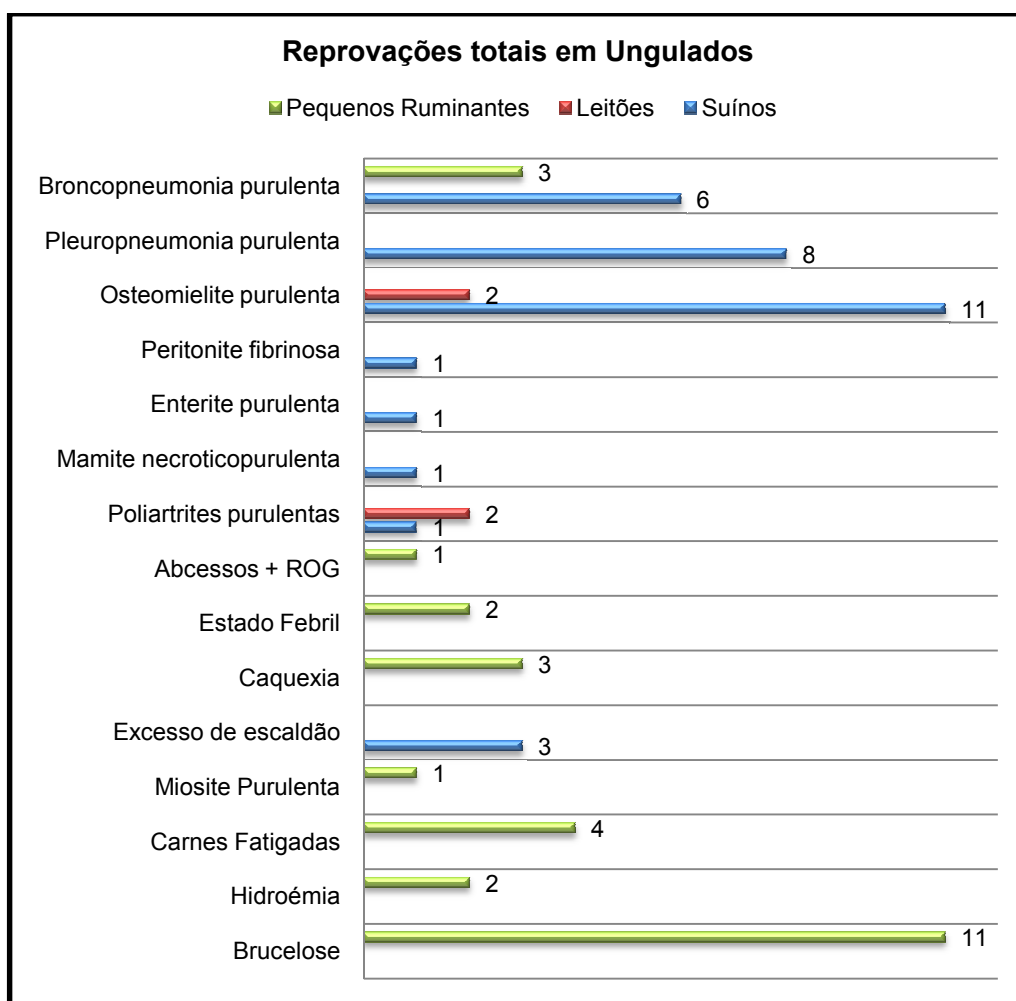


Gráfico 1 - Causas de reprovação em ungulados, por espécie, durante o período de estágio

Da interpretação do gráfico 1, verifica-se que as principais causas de reprovação total, em **suínos**, foram osteomielite purulenta (figura 3), correspondendo a 34,4% do total de reprovações em suínos, e pleuropneumonia purulenta (figura 4), com 25% do total de reprovações. Dado que as osteomielites e pneumonias purulentas traduzem situações de pioémia, a reprovação é, nestes casos, sempre total (ponto 1, capítulo V, secção II do anexo I do Regulamento (CE) n.º 854/2004).



Figura 3 - Osteomielite purulenta acompanhada de metástases (suíno)

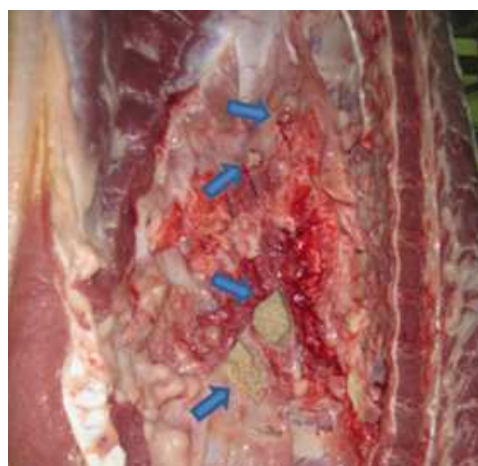


Figura 4 - Pleuropneumonia purulenta com múltiplos abscessos (suíno)

As rejeições de carcaças por excesso de escaldão (9,4%), com representação nas figuras 5 e 6, foram o resultado de uma avaria na linha de abate, não possibilitando o cumprimento do binómio tempo/temperatura do escaldão, tendo as carnes adquirido aspeto cozido. Dada a alteração de consistência que apresentam, estas carcaças são rejeitadas na totalidade (ponto 1, capítulo V, secção II do anexo I do Regulamento (CE) n.º 854/2004).



Figura 5 - Carcaça com alteração de consistência por excesso de escaldão.



Figura 6 - Aspeto cozido das carnes de suíno por excesso de escaldão

Nos **leitões**, as principais causas de reprovação foram osteomielites e poliartrites purulentas.

Quanto aos **pequenos ruminantes**, além do abate sanitário de brucelose, com uma reprovação total de 47,8% do total de animais abatidos, as principais causas de rejeição foram carnes fatigadas (17,4%), caquexia (13%) e broncopneumonia purulenta (13%). As duas primeiras situações estão representadas nas figuras 7 e 8, respetivamente.



Figura 7 - Carnes fatigadas (ovino)



Figura 8 - Caquexia (ovino)

As carnes fatigadas são reprovadas na totalidade, uma vez que apresentam uma suscetibilidade maior ao desenvolvimento microbiano. Poderá evitar-se este prejuízo, submetendo os animais a um repouso adequado antes do abate.

As carnes caquéticas, ou emacidas, são reprovadas de acordo com o ponto 1, capítulo V, secção II do anexo I do Regulamento 854/2004.

2.1.2. Lagomorfos

As principais causas de reprovação em lagomorfos foram lesão fibrinopurulenta (27,6%), abscessos (26,2%) e estado febril (24,5%), como se pode constatar pelo gráfico 2. Do total de coelhos abatidos, 1,2% foram rejeitados para consumo humano.

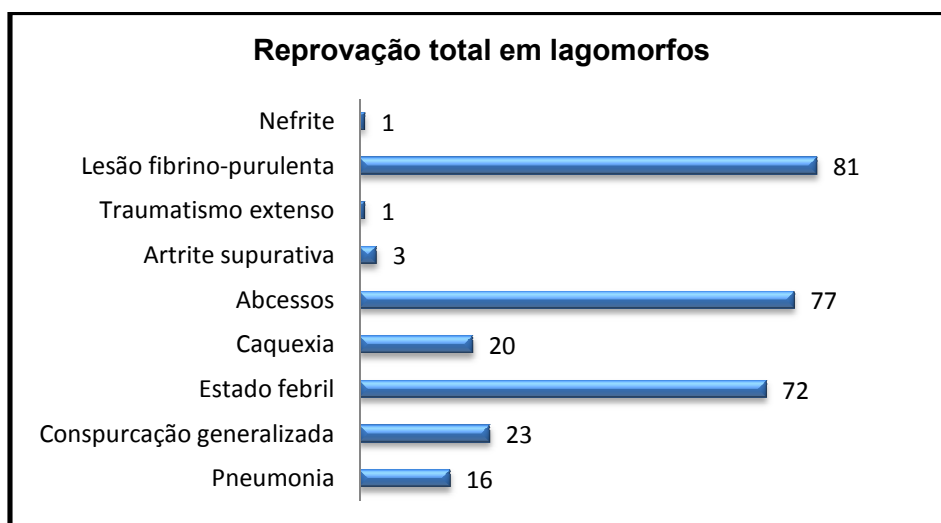


Gráfico 2 - Causas de reprovação em lagomorfos abatidos durante o período de estágio no Centro de Abate de Coelhos "Joaquim Jesus Ramos".

2.1.3. Aves

Da inspeção *post mortem* resultou a rejeição de 3589 frangos, correspondendo a uma percentagem de reprovação de 1,8%. As causas de rejeição encontram-se discriminadas no gráfico 3.

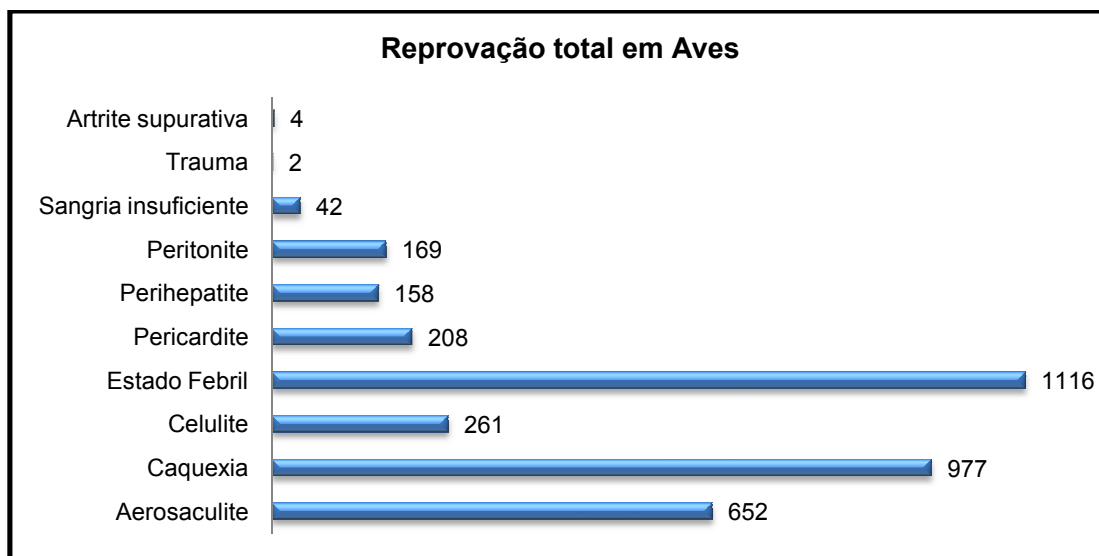


Gráfico 3 - Causas de reprovação em aves durante o período de estágio no Centro de Abate de Frangos "Hilário e Filhos"

Pela análise do gráfico constata-se que as causas que contribuíram para uma maior rejeição *post mortem* foram estado febril (31,1%), caquexia (27,2%) e aerosaculite (18,2%), ilustrada na figura 9. Apenas esta última situação (aerosaculite) é identificada no decurso da evisceração, contrariamente às anteriores que são detetadas antes desta etapa, podendo as carcaças ser retiradas da linha de abate pelo pessoal do matadouro, ainda que sujeitas a subsequente inspeção pelo MVO.



Figura 9 – Aerosaculite, espessamento ligeiro dos sacos aéreos

Outras causas de reprovação frequentes foram celulite (7,3%) e pericardite (5,6%), representas nas figuras 10 e 11, respetivamente.

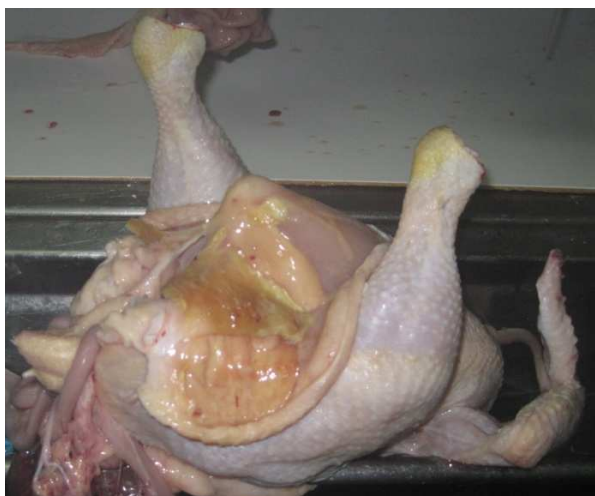


Figura 10 - Celulite húmida de extensão considerável



Figura 11 - Pericardite (exsudado espesso, amarelo e seco sobre o coração)

Aquando o abate sanitário de lotes positivos à salmonela, a taxa de reprovação do dia elevou-se para 5,5%, em contraste com a média de 0,8%. Do total de 8 bandos, 5 eram positivos à salmonela. Nestes, a percentagem de reprovação foi, em média, 8,5%.

Os bandos positivos à salmonela foram submetidos a serotipagem para identificação de *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium, responsáveis por toxinfecções humanas. O resultado revelou-se negativo para ambos.

As aves destes bandos apresentavam, entre outras lesões, hepatomegália com focos necróticos (figura 12) e enterite hemorrágica (figura 13).

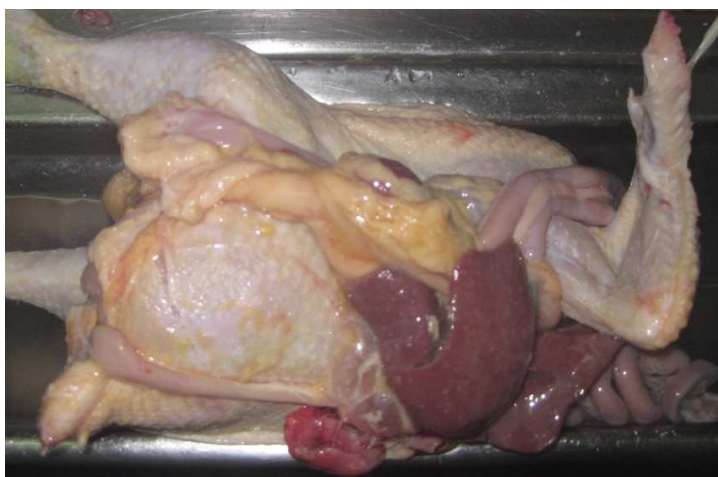


Figura 12- Fígado com focos necróticos em bando positivo à salmonella

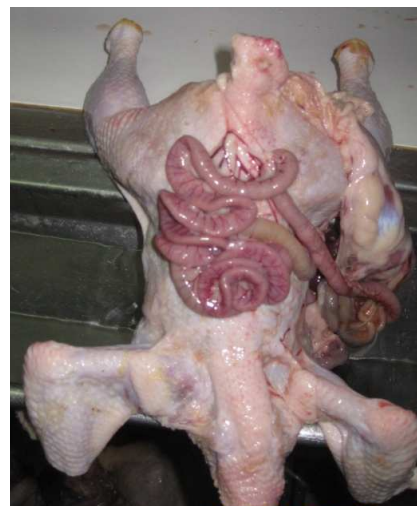


Figura 13 - Enterite hemorrágica em bando positivo à salmonella

2.2. Reprovações parciais

Nos **suínos**, como se pode concluir pelo gráfico 4, os órgãos mais frequentemente reprovados foram o fígado (25%) e o coração (4,3%), seguindo-se as cabeças (4,2%),

vísceras brancas (4,0%), víscera vermelha completa (3,0%), orelhas (0,3%), língua (0,1%) e, por último, extremidades (0,08%). Os rins e pulmões não foram contabilizados.

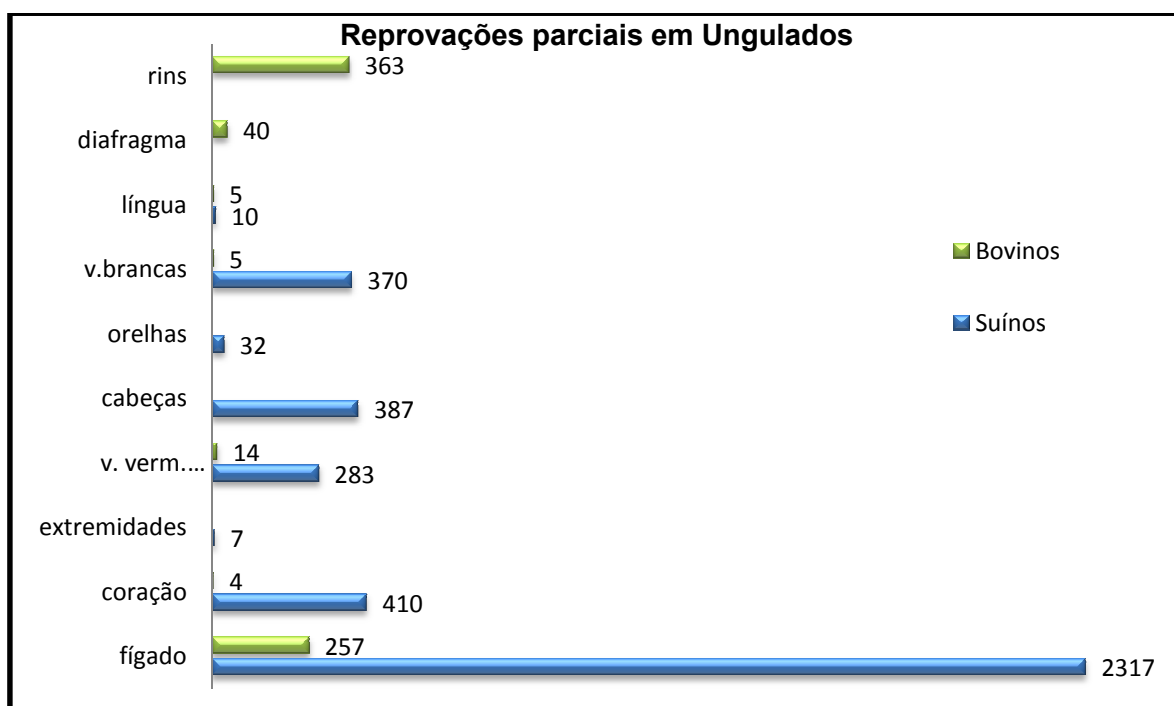


Gráfico 4 - Reprovações parciais em bovinos e suínos durante o período de estágio no MBL

As alterações mais frequentemente detetadas, para cada um dos órgãos, foram:

Fígado – esteatose, congestão, aderências fibrinosas e parasitismo (figura 14 a, b);

Coração – pericardites fibrinosas (figura 14 d);

Cabeças – abscessos e lesões granulomatosas nos linfonodos mandibulares;

Vísceras brancas – LTS;

Víscera vermelha completa – LTS, má sangria e processos fibrinosos (figura 14 d) e fibrinopurulentos;

Orelhas – oto-hematomas;

Língua – conspurcação, LTS e abscessos;

Extremidades – artrites serosas (figura 14 e) ou purulentas e abscessos encapsulados;

Rins – quistos renais (figura 14 f), nefrites inespecíficas, petéquias e enfarte renal;

Pulmões – pneumonia (figura 14 c), pleuropneumonia, quistos parasitários, enfisema, congestão pulmonar e aspiração agónica de sangue.

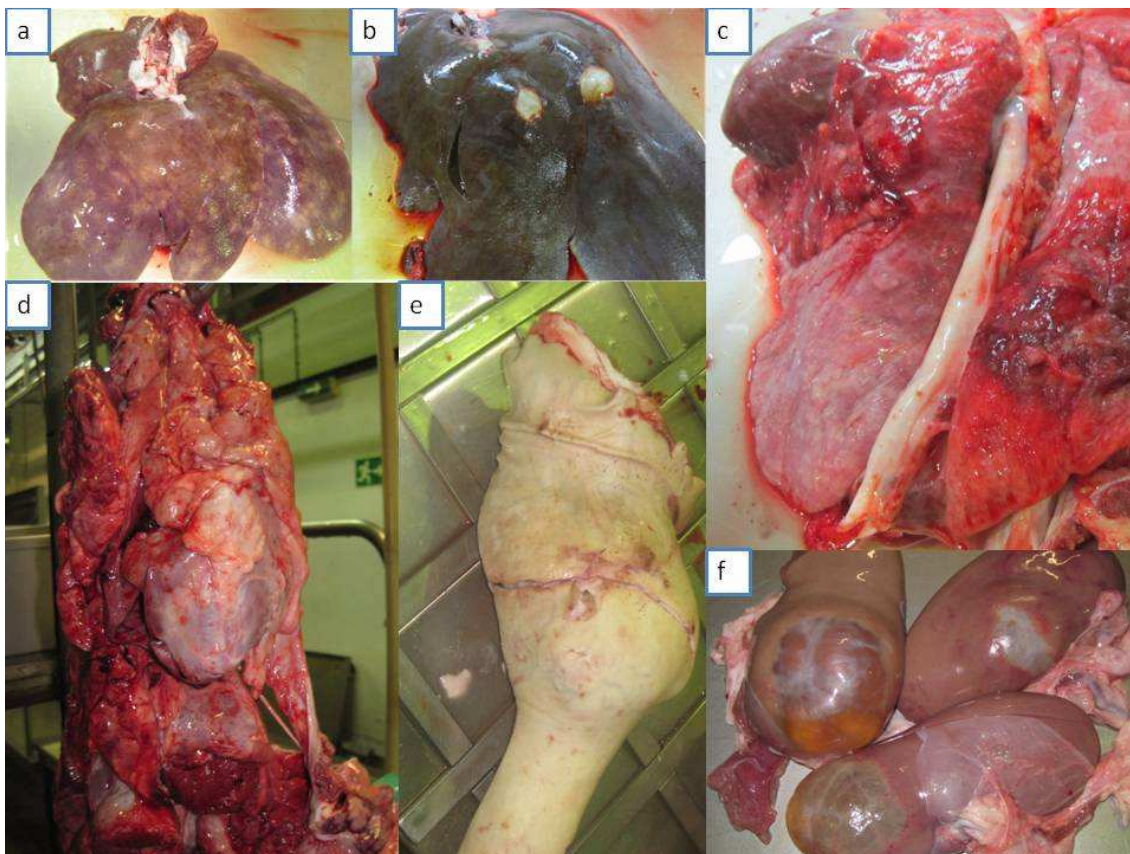


Figura 14 - Órgãos de suínos reprovados por parasitose hepática (a,b), pneumonia (c), pericardite fibrinosa e aderências das vísceras vermelhas (d), artrite sérica (e) e quistos renais (f)

Nos **bovinos**, como se pode concluir pelo gráfico 4, os órgãos mais frequentemente reprovados foram os rins (24,1%) e o fígado (17,1%), seguindo-se o diafragma (2,7%), víscera vermelha completa (0,9%), vísceras brancas (0,3%), língua (0,3%) e coração (0,3%). Os pulmões não são contabilizados por rotina, dado o seu escasso valor comercial.

As alterações mais frequentemente detetadas, para cada um dos órgãos, foram:

Fígado – esteatose, aderências fibrinosas, parasitismo (figura 15 a, b) e telangiectasia (figura 15 c);

Coração – pericardites fibrinosas;

Vísceras brancas – limpeza quando lesões fibrinosas consequentes a reticuloperitonite traumática, úlceras e outras lesões fibrino-purulentas;

Víscera vermelha completa – conspurcação (figura 15 d), lesões fibrinopurulentas, aderências fibrinosas;

Língua – conspurcação, úlceras extensas e fibrose (figura 15 g);

Rins – congestão, nefrites intersticiais difusas (figura 15 f) e focais;

Pulmões – pneumonia, nódulos parasitários (figura 15 e) e enfisema.

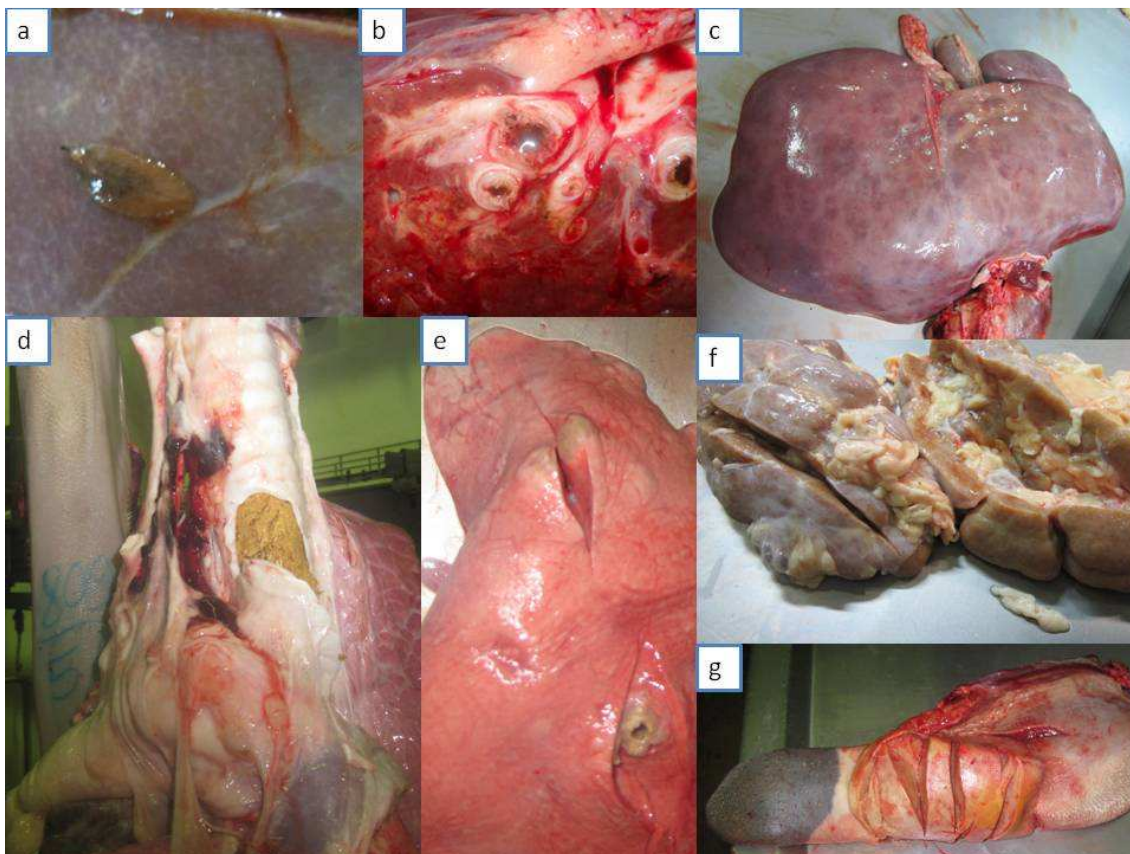


Figura 15 - Órgãos de bovinos reprovados por fasciolose (a), quistos parasitários (b), telangictasia (c), conspurcação (d), nódulos parasitários pulmonares (e), nefrite intersticial difusa (f) e fibrose da língua (g)

3. Linfadenite Tuberculosa Suína

3.1. Introdução

Durante a inspeção *post mortem* de suínos abatidos no MBL, verificou-se uma elevada prevalência de alterações ao nível dos gânglios mandibulares, que apresentavam múltiplos focos lesionais caseocalcáreos, acompanhados ou não de hipertrofia (figura 16), conduzindo à reprovação da cabeça.

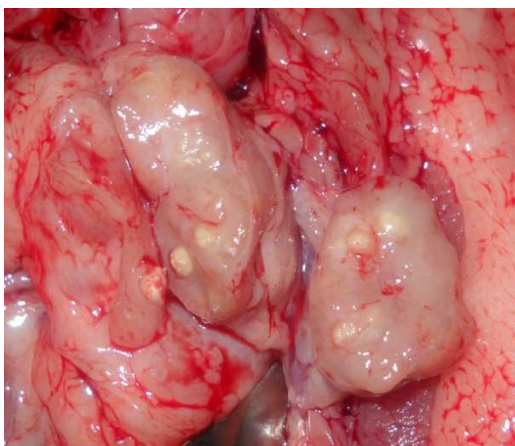


Figura 16 - Linfonodo mandibular com lesões granulomatosas

Do total de 9281 suínos abatidos naquele matadouro, 387 (4,2%) cabeças foram rejeitadas e, destas, cerca de 376 devido à presença de lesões ganglionares granulomatosas. As vísceras brancas dos animais acometidos foram igualmente rejeitadas.

A linfadenite em suínos é caracterizada pela pluralidade de agentes infecciosos, capazes de provocarem lesões granulomatosas semelhantes e indistinguíveis macroscopicamente (Radostitis *et al*,

2007). Estas lesões são causadas, principalmente, pelo género *Mycobacterium* e, em menor frequência, por *Rhodococcus equi* (Takai S. et al, 1996; Vieira P. et al., 2000; Komijn R. E. et al, 2007; Lara G. H. et al, 2011). No entanto, foram também já isolados *Streptococcus* β hemolítico, *Corynebacterium* sp, *Arcanobacterium pyogenes* e *Staphylococcus* sp. (Lara G. H. et al, 2011).

As micobactérias pertencentes ao Complexo *Mycobacterium avium* (MAC) são as principais responsáveis pelas linfadenites granulomatosas de suínos, detetadas em matadouro, e as oportunistas mais comuns, detetadas nas infeções bacterianas em humanos imunodeprimidos (Dvorska et al., 2004; Biet et al, 2005).

No início de Novembro de 2004, verificou-se um aumento brusco de casos de tuberculose suína, em matadouros portugueses, tendo sido *Mycobacterium avium hominissuis* (MAH) o principal agente isolado (Baptista R. et al., 2005; Domingos et al, 2009).

Segundo o Regulamento 854/2004, é obrigatória a incisão dos gânglios linfáticos mandibulares e a inspeção visual, palpação e, se necessário, incisão dos gânglios linfáticos mesentéricos nos suínos, durante a inspeção *post mortem*.

Os critérios de decisão sanitária de suínos com lesões ganglionares granulomatosas, compatíveis com infeção por *Mycobacterium avium*, deverão ser realizados de acordo com a Circular nº232/G de 2005, ou seja:

- Lesões apenas nos gânglios linfáticos submandibulares: reprovação da cabeça.
- Lesões apenas nos gânglios linfáticos mesentéricos: reprovação das vísceras brancas.
- Alterações extensas nos gânglios linfáticos (em regiões anatómicas diferentes) ou em outros órgãos afetados: reprovação total da carcaça e vísceras.
- Animais muito jovens com lesões caseocalcáreas em qualquer gânglio linfático: reprovação total da carcaça e vísceras.

Quanto ao Regulamento (CE) n.º 854/2004, este apenas refere os critérios de decisão sanitária relativos à tuberculose (capítulo IX, secção IV do anexo I).

A elevada ocorrência destas lesões ganglionares granulomatosas suscitou o interesse, motivando o desenvolvimento de um trabalho laboratorial, com o objetivo de determinar se o agente etiológico envolvido pertence ao MAC, bem como relacionar o diagnóstico visual com o laboratorial, por meio de técnicas de histopatologia e bacteriologia. Pretende-se, deste modo, constatar se a inspeção baseada na observação de lesões granulomatosas ganglionares se tem revelado correta no diagnóstico de infeção por *Mycobacterium*, uma vez que se trata de uma doença de declaração obrigatória (DDO) (Decreto-Lei 39 209, de 14 de Maio de 1953).

3.1.1. Género *Mycobacterium* - Complexo *Mycobacterium avium* (MAC)

As micobactérias apresentam forma de bastonete, são aeróbias, não formadoras de esporos e imóveis. Apresentam multiplicação intracelular e provocam infeção granulomatosa crónica em várias espécies animais (Quinn P.J. *et al*, 2005).

O método de coloração Ziehl-Neelsen (ZN) é usado para diferenciar as micobactérias de outras bactérias. Esta coloração trata-se de uma técnica histoquímica, utilizada para evidenciar microrganismos com alto conteúdo de ácido micólico e lípidos na sua parede celular que, sendo responsáveis por uma grande hidrofobicidade, dificultam a ação dos vulgares corantes aquosos. Os lípidos ligam-se à fucsina carbólica que não é removida pelo descorante álcool-ácido usado na técnica. Os bacilos, que se coram de vermelho, são, assim, considerados álcool-ácido resistentes (BAAR) (Quinn P.J. *et al*, 2005). Por sua vez, a diferenciação entre micobactérias dá-se a partir das características culturais, testes bioquímicos, inoculações em animais, análises cromatográficas e técnicas moleculares (Quinn P.J. *et al*, 2005).

O MAC é composto por *Mycobacterium avium* e *Mycobacterium intracellulare*, estando o primeiro subdividido em 4 subespécies (figura 17). Os membros deste Complexo apresentam distribuição ubiquitária e produzem infeção oportunista em mamíferos. Em humanos, as infeções ocorrem sobretudo em indivíduos imunodeprimidos e infetados com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) (Biet *et al*, 2005).

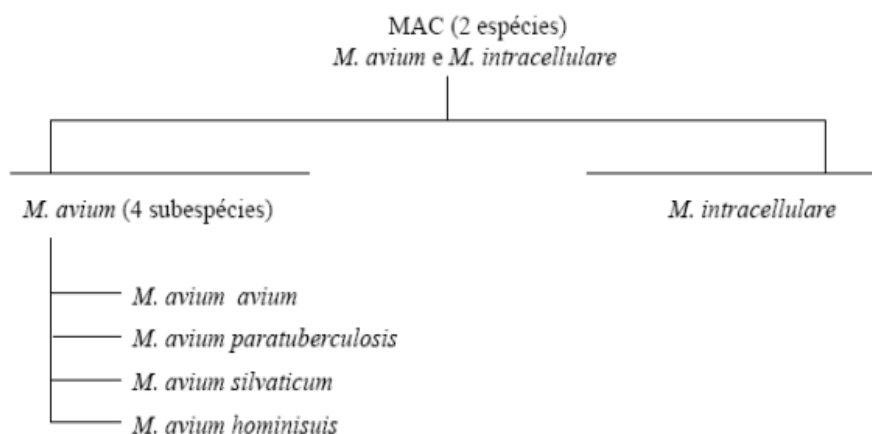


Figura 17 - Membros do complexo *Mycobacterium avium* (adaptado de Biet *et al.*, 2005)

A genotipagem das estirpes de *Mycobacterium avium avium* (MAA) isoladas de humanos e suínos revelam elevada homologia, sugerindo que os suínos são uma fonte de infeção para humanos ou que ambos partilham fontes de infeção (Komijn R. E. *et al*, 2007).

Em Portugal (Domingos M. *et al*, 2009) e na Noruega, a micobactéria mais frequentemente isolada em lesões granulomatosas de suínos, por reação de polimerização em cadeia (PCR), foi MAH, altamente excretada nas fezes dos animais infetados, apresentando, assim, uma grande capacidade em infetar o ambiente, intensificando a transmissão via fecal-oral

(Agdestei A. *et al*, 2012). A via de transmissão oral é igualmente suportada pela localização dos granulomas nos gânglios mandibulares, mesentéricos e nas amígdalas, embora nem sempre evidenciando lesões macroscópicas (Agdestei A. *et al*, 2012; Lara G. H. *et al*, 2011). Os granulomas visíveis macroscopicamente podem demorar até quatro meses para surgirem, além de que a dose infectante e a estirpe bacteriana condicionam o seu desenvolvimento (Thoen, 1992; Morés N. *et al*, 2011).

As infecções por *M. avium*, em suínos, são desprovidas de sintomatologia clínica, diagnosticando-se *ante mortem* pela reação ao teste de tuberculina ou *post mortem* por histopatologia, bacteriologia e técnicas de biologia molecular.

As fontes de infecção, para suínos, estão associadas ao meio ambiente, nomeadamente à utilização de cama de serrim ou aparas de madeira, alimentos e água contaminada, acesso de reservatórios silvestres às explorações, mau maneio e má higiene e conservação das instalações (Radostitis *et al*, 2007).

Em humanos, surgem infecções pulmonares em indivíduos com doença pulmonar crónica concomitante e linfadenopatias cervicais em crianças até aos 4 anos de idade (Biet *et al*, 2005; Komijn R.E. *et al*, 2007; Kumar V. *et al*, 2008; Agdestei A. *et al*, 2012). Em indivíduos imunodeprimidos, sobretudo quando infectados com HIV, o MAC apresenta-se como uma doença disseminada, sendo o envolvimento pulmonar indistinguível da tuberculose (Biet *et al*, 2005; Kumar V. *et al*, 2008).

A água potável é considerada como a principal fonte de infecção de MAC nos seres humanos (Biet *et al*, 2005). Slana *et al* (2010) detetaram MAH em músculo de suínos, considerando-se a ingestão destas carnes uma problemática para a saúde pública.

3.2. Material e métodos

Durante o período de estágio, nos meses de Janeiro e Fevereiro, foram colhidos 47 gânglios mandibulares que evidenciavam, macroscopicamente, focos lesionais compatíveis com granulomas de provável etiologia por *Mycobacterium*, correspondentes a 47 animais provenientes de 7 explorações diferentes da região centro. A quantidade de gânglios colhidos, para cada exploração (tabela 4), foi diretamente proporcional à prevalência de lesões ganglionares. A apresentação do número de cabeças reprovadas, na tabela 4, pretende representar essa mesma proporcionalidade.

Cada gânglio foi seccionado em 2 metades, sendo que uma parte foi fixada em formol a 10% e a outra foi criopreservada (armazenada a – 20°C). Os tecidos fixados em formol foram sujeitos a exame histopatológico e os tecidos criopreservados foram submetidos a exame bacteriológico.

Exploração	Gânglios recolhidos		Nº de cabeças reprovadas por LTS
	Nº	%	
A	35	74,5	154
B	2	4,3	2
C	1	2,1	2
D	1	2,1	1
E	1	2,1	1
F	4	8,5	12
G	3	6,4	3

Tabela 4 - Quantidade de gânglios recolhidos e cabeças reprovadas, por exploração, no período de recolha das amostras (Janeiro e Fevereiro)

3.2.1. Histologia

As partes de gânglio fixadas em formol foram processadas e coradas no Laboratório de Diagnóstico Histopatológico do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar (ICBAS).

Numa primeira fase, os gânglios foram avaliados macroscopicamente quanto à sua morfologia, dimensão, consistência, cor e características das lesões. Cada gânglio originou dois a quatro fragmentos, consoante a lesão se apresentasse mais ou menos evidente, respetivamente. Os fragmentos foram colocados numa cassete e processados, de modo a desidratá-los e clarificá-los. Após este processo, foram incluídos em parafina, obtendo-se um total de 100 blocos. Posteriormente, foram efetuados cortes com 2 µm de espessura e as lâminas foram coradas com hematoxilina-eosina (HE), coloração de Gram, ácido periódico de schiff (PAS) e Ziehl-Neelsen (ZN). A metodologia usada na coloração das lâminas seguiu os protocolos da instituição, apresentados no ANEXO VI. No total obtiveram-se 400 lâminas. Todas as lâminas coradas por ZN foram observadas na objetiva de imersão (100x) e classificadas como positivas, inconclusivas ou negativas.

De modo a facilitar a terminologia, ao longo do trabalho, o exame dos cortes de tecido corados por ZN será convencionado de “histoquímico I”.

3.2.2. Bacteriologia

Posteriormente aos exames histopatológicos, foram realizados exames bacteriológicos no Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (INSA). Para tal, foi selecionado, aleatoriamente, um gânglio proveniente de um suíno de cada uma das sete explorações.

Inicialmente, cada amostra criopreservada foi descongelada e macerada com solução tampão de fosfato pH 6,8, recorrendo-se a almofariz e pilão. Todo o processo subsequente, nomeadamente, descontaminação e homogeneização para exame direto e cultural de

pesquisa de agentes do género *Mycobacterium*, apresenta-se descrito, detalhadamente, no ANEXO VII do presente relatório. Esta descontaminação tem como objetivo a máxima inativação dos microrganismos eventualmente presentes e menos exigentes em nutrientes, tendo consequência mínima para as micobactérias. Aquando a inoculação, os meios de cultura sólidos utilizados foram Löwenstein-Jensen® e Coletos® e o meio de cultura líquido usado foi BBL™ MGIT™, todos semeados em duplicado. No meio líquido, previamente à inoculação, foi adicionado um conjunto de antibióticos (polimixina B, anfotericina B, ácido nalidixico, trimetoprim e azlocilina), de modo a reduzir a ocorrência de contaminações. Todos os meios de cultura foram incubados a 37°C, por um período de 42 dias para o meio líquido, e 6 a 8 semanas para os meios sólidos.

Em concomitância, foram realizadas lâminas do sedimento obtido após centrifugação, coradas por ZN, para exame microscópico direto. Este exame, ao longo do trabalho, será referido como “histoquímico II”.

3.3. Resultados

Relativamente ao exame macroscópico, os gânglios, em média, mediam 2,5 cm no seu maior diâmetro e apresentavam consistência moderadamente firme. Ao corte, identificaram-se um número variável de lesões nodulares (1 a 4), multifocais a coalescentes, medindo entre 0,1 a 0,5 cm de diâmetro e de cor esbranquiçada. As lesões de maiores dimensões ostentavam tonalidade branca/creme com conteúdo central caseoso (figura 18).



Figura 18 - Aspeto das lesões granulomatosas dos gânglios fixados em formol

O exame histológico demonstrou linfonodos compostos por numerosos folículos com centros germinativos evidentes, compatíveis com hiperplasia ganglionar. Foram, também, identificadas várias lesões granulomatosas, sobretudo granulomas caseosos típicos, em 95,7% dos gânglios. Estes granulomas ostentavam zonas de necrose central (com calcificação distrófica na maioria dos casos), diretamente circunscritas por um anel de macrófagos, células epitelióides e células gigantes multinucleadas, com os núcleos adjacentes à membrana citoplasmática (Células gigantes de Langhans) ou, mais raramente, núcleos dispostos de forma aleatória no citoplasma. A periferia exibia uma coroa de

linfócitos e, mais externamente, uma cápsula de tecido fibroso de espessura variável (figuras 19 e 20).

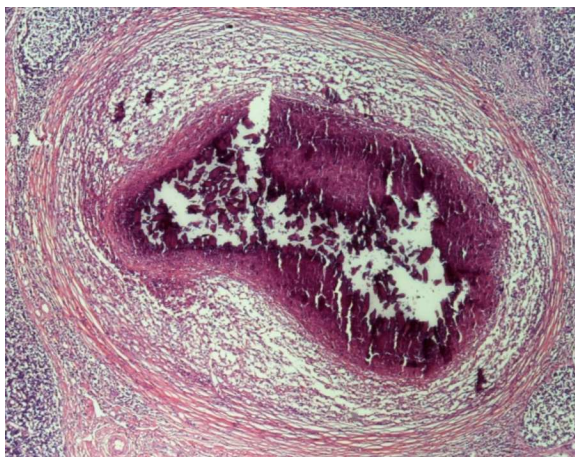


Figura 19 – Corte histológico de linfonodo mandibular com linfadenite granulomatosa (HE, objetiva 10x)

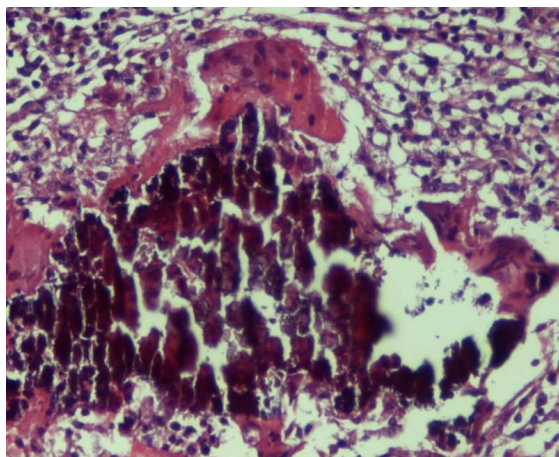


Figura 20 - Pormenor de granuloma com células multinucleadas (HE, objetiva 20x)

No que diz respeito ao exame histoquímico I, visualizaram-se BAAR em 19% dos gânglios, 25,5% foram inconclusivos e 55,3% negativos.

Nos casos positivos (figura 21 A e B), os bacilos, corados por fucsina, encontravam-se no citoplasma dos macrófagos, ou, mais raramente, livres na zona de necrose. Consideraram-se inconclusivos os gânglios com imagens granulomatosas muito sugestivas, evidenciando bacilos com morfologia e em localização compatível, mas cuja coloração histoquímica não traduzia a positividade esperada (figura 21 C).

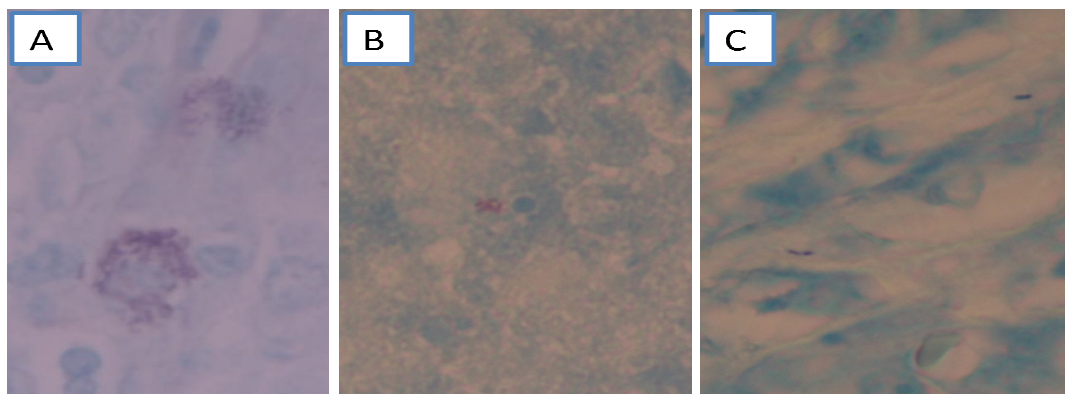


Figura 21 - A e B: Presença de BAAR pelo método de ZN; C: Bacilos com morfologia e localização compatível com micobactérias, mas não corados, ou fracamente corados, pela fucsina (caso inconclusivo) (objectiva100x)

No exame histoquímico II visualizaram-se bacilos, corados por fucsina, em 3 dos 7 gânglios. Relativamente à bacteriologia, até à data, apenas 2 culturas evidenciaram crescimento em meio líquido, apresentando bacilos cocóides muito semelhantes aos do MAC. Entretanto, para uma dessas culturas realizou-se o teste AccuProbe®, uma ferramenta de identificação molecular com sonda genética, que confirmou a presença de BAAR pertencentes ao MAC. Os resultados histoquímicos e das culturas apresentam-se resumidos na tabela 5.

Na maioria dos casos verificou-se a presença e crescimento de bacilos contaminantes (figura 22).

Amostra	Cultura		Histoquímica I	Histoquímica II
	Meio Sólido	Meio Líquido		
A		+	Inconclusivo	+
B			+	-
C			Inconclusivo	+
D			Inconclusivo	+
E			-	-
F			-	Fragmentos de bacilos
G		+	Inconclusivo	-

Tabela 5- Resultados histoquímicos e das culturas dos gânglios provenientes de um suíno de cada uma das sete explorações (Células não preenchidas correspondem a resultados ainda não disponíveis)

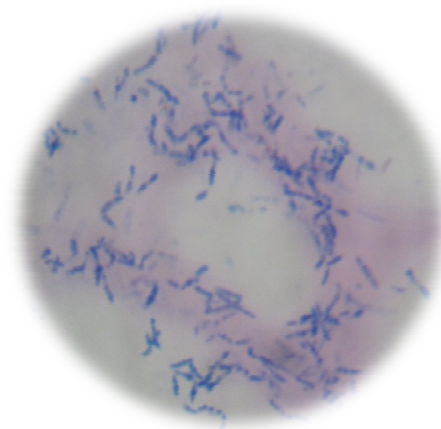


Figura 22 - Bacilos contaminantes a partir de cultura em meio líquido para pesquisa de *Mycobacterium* (objetiva 100x)

3.4. Discussão

Dos resultados obtidos podemos constatar a elevada concordância entre a inspeção visual *post mortem* e o exame histopatológico pela coloração de rotina (HE). Na maioria dos gânglios com lesões granulomatosas identificou-se, microscopicamente, granulomas típicos, ainda que em diferentes estadios de desenvolvimento. A existência de diferentes granulomas, por vezes no mesmo gânglio, poderá ser justificada pelo momento da infeção (Hibiya *et al.*, 2008) e pelo contacto permanente com o agente, em diferentes fases da vida dos suínos, visto este ser considerado um organismo ubiquitário (Domingos *et al.*, 2009). A ausência de lesões granulomatosas, em 2 dos 47 gânglios, poderá, no entanto, ser justificada pelo seu eventual destacamento no momento da incisão da peça ganglionar em fragmentos e/ou a sua não inclusão no corte histológico.

O exame histoquímico I revelou BAAR em 19% dos gânglios. Eventualmente, o número reduzido de bacilos e a baixa sensibilidade da técnica de ZN (Margolis *et al.*, 1994) são

responsáveis pela baixa concordância entre a imagem histopatológica (granuloma típico) e o resultado da técnica histoquímica.

O diagnóstico histoquímico não oferecia dúvidas quando os bacilos eram muito abundantes e adotavam uma disposição característica em grumos (figura 21 A), devido à manutenção da estrutura que têm no interior dos macrófagos. Porém, nos casos em que a quantidade de bacilos era menor, ou não apresentavam a coloração esperada, ainda que em localização compatível, a classificação tornou-se mais difícil, considerando-se, para o efeito, esses casos como inconclusivos, estando o diagnóstico definitivo, inegavelmente, dependente de outros métodos laboratoriais. Futuramente, como uma das opções disponíveis, pretende-se efetuar exames imunohistoquímicos para comprovar e relacionar com os resultados obtidos por histoquímica.

A técnica de ZN tem algumas limitações, nomeadamente a sua afinidade tintorial, dependente da estirpe envolvida e, conseqüentemente, da composição da sua parede celular, assim como do estado de preservação das amostras. Contudo, ressalva-se que o tempo decorrido entre a colheita e a fixação em formol dos gânglios, em caso algum, excedeu as 2 horas. No entanto, aquando a colheita dos gânglios, é possível que tenha ocorrido contaminação das amostras, justificando a presença de cocos e bacilos contaminantes, especialmente nas margens do gânglio.

Como tal, e ainda que Agdestein *et al* (2011) considerem que o exame macroscópico e microscópio, conjuntamente, detetem, na maioria das vezes, a infeção por micobactérias em suínos, outros métodos laboratoriais são necessários para identificar e/ou confirmar o agente etiológico envolvido.

O exame histopatológico, neste estudo, e nesta fase, revelou-se, assim, insuficiente para identificar o agente envolvido. Deste modo, e dada a dificuldade na identificação de bacilos pertencentes ao MAC diretamente do tecido infetado (Slana *et al*, 2010), procedeu-se à cultura em meios sólidos e líquidos favoráveis ao crescimento de micobactérias. No entanto, os métodos de cultura disponíveis são abordagens demoradas e, segundo Baptista R. *et al* (2005), nem sempre eficazes para o MAC.

Os resultados do exame bacteriológico, até então obtidos, reforçam já as limitações da técnica de ZN, tratando-se de um método simples e rápido, diferencial para micobactérias, mas pouco sensível para baixas densidades de colonização. De igual modo, confirma-se a presença de BAAR em 2 explorações distintas, com as conseqüentes repercussões para a saúde pública.

O trabalho, apesar de nesta fase não permitir, ainda grandes conclusões, reflete a necessidade de testes mais rápidos e confiáveis para o correto diagnóstico de infeções por *Mycobacterium*.

Conclusão

A realização deste estágio permitiu uma aproximação às atividades desenvolvidas pelo MVO, permitindo constatar que a sua ação não se concentra somente na deteção de indicadores de doença ou de zoonoses, mas estende-se a fatores que ultrapassam os limites do matadouro. Assim, a atividade e responsabilidades do MVO são muito abrangentes, passando, nomeadamente, pelo controlo das condições de transporte e de abate/captura, assim como pela higienização das instalações e operações de manipulação de alimentos. Para que o controlo higio-sanitário do pescado e da carne seja realizado na sua plenitude, nas diferentes fases de produção até à comercialização, é crucial que a responsabilidade seja partilhada entre os operadores e as autoridades nacionais. Desta forma, e sendo um dado inegável que a responsabilidade do MVO é a salvaguarda da saúde pública, impedindo a entrada na cadeia alimentar de produtos de origem animal impróprios para consumo humano, não deverão ser descuradas questões relativas ao bem-estar e saúde animal.

Durante o período de estágio, as espécies com maior taxa de reprovação foram os pequenos ruminantes e aves, em parte devido aos abates sanitários de brucelose e salmonelose, respetivamente. Os processos patológicos que com mais frequência conduziram à rejeição total em ungulados foram osteomielite purulenta e pleuropneumonia purulenta. Nos lagomorfos e aves, as principais causas de reprovação total foram lesões fibrino-purulentas e estado febril, respetivamente. O parasitismo hepático, a broncopneumonia, as pericardites fibrinosas e as nefrites intersticiais constituíram as principais e importantes causas de reprovação parcial em ungulados.

No decurso do exame *post mortem* é, normalmente, muito difícil realizar um diagnóstico etiológico preciso com base no quadro lesional presente, daí a importância de todas as informações recolhidas através da documentação que acompanha o animal, da inspeção *ante mortem* e dos testes laboratoriais complementares. No entanto, estes últimos são morosos, de modo que as decisões sanitárias baseiam-se, geralmente, no Regulamento (CE) nº 854/2004, na fisiopatogenia dos processos patológicos e na possível repercussão na saúde pública.

Relativamente à LTS, o exame *post mortem* revelou-se bastante útil na identificação das lesões a nível macroscópico, mas, não permite a realização do seu diagnóstico etiológico definitivo. No entanto, no momento da inspeção no matadouro, perante uma lesão granulomatosa nos gânglios do trato digestivo (mandibulares e mesentéricos), opta-se sempre por classificação como LTS e o destino previsto para o efeito

A técnica de ZN constituiu uma ferramenta simples e rápida, porém com baixa sensibilidade na deteção de micobactérias, apresentando resultados inconstantes e pouco conclusivos.

Relativamente aos resultados culturais, até então obtidos, verifica-se que não são concordantes com as técnicas histoquímicas desenvolvidas ao longo do trabalho, porém são mais conclusivos quanto à etiologia das lesões granulomatosas. Numa fase posterior, e consoante os restantes resultados, é, também, do nosso interesse, mediante técnicas de biologia molecular, identificar a subespécie envolvida.

Os microrganismos pertencentes ao MAC têm importância para a saúde pública e a suinicultura está a permitir o estabelecimento de ciclos dinâmicos que favorecem a sua propagação. As técnicas de diagnóstico *in vivo*, como o teste da tuberculina, são pouco sensíveis e específicas. O diagnóstico *post mortem*, por sua vez, é pouco conclusivo, sendo necessárias técnicas laboratoriais complementares para confirmação. Estas, porém, são demoradas e dispendiosas, dadas as exigências de crescimento das micobactérias.

A LTS não é uma situação recente em Portugal, em finais de 2004 foram enviadas ao LNIV várias amostras de linfonodos que evidenciavam hipertrofia e focos necro-calcificados, confirmando-se um surto por infeção com MAH. Contudo, mais recentemente, perante tais lesões, apenas se declara a doença, não se encaminhando para um laboratório de referência qualquer material. Assim, não se dispõe de uma panorâmica correta da atual situação em Portugal, requisito fundamental para uma atuação ponderada e proporcionada, sobretudo quando se trata de uma provável DDO. Deste modo, consideramos necessária, e oportuna, a execução de ensaios com vista a determinar a real situação no nosso país, qual o verdadeiro impacto dos agentes etiológicos envolvidos e que técnicas poderão facilitar o seu correto diagnóstico.

Referências bibliográficas

- Agdestein A, Johansen TB, Kolbjørnsen O, Jørgensen A, Djønne B, et al. (2012). "A comparative study of *Mycobacterium avium* subsp. *avium* and *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis* in experimentally infected pigs" in **BMC Vet. Research** 8: 11.
- Agdestein A., Johansen T.B., Poláček V., Lium B., Holstad G., Vidanović D., Aleksić-Kovačević S., Jørgensen A., Žultauskas J, Nilsen S.F.and Djønne B. (2011) "Investigation of an outbreak of mycobacteriosis in pigs" in **BMC Vet. Research** 7:63.
- Baptista R., Monteiro M., Amado A., Albuquerque T., Botelho A. (2005). "Linfadenite tuberculosa em suínos (Complexo *Mycobacterium avium*)" in **Revista da Sociedade Científica de Suinicultura** 2, 34-36.
- Biet F, Boschirolu ML, Thorel MF, Guilloteau LA. (2005) "Zoonotic aspects of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium avium*-intracellulare complex (MAC)" in **Vet. Research** 36, 411-436
- Circular nº232/G da Direção Geral de Veterinária de 29/07/05.
- Circular N.º 75 da Direcção de Serviços de Higiene Pública Veterinária de 12/10/2009.
- Decreto-Lei Nº 39 209 de 14 de Maio de 1953 in **Diário da República**, I Série, Número 100, 746-748.
- Decreto-Lei N.º 28/84 de 20 de Janeiro in **Diário da República**, I Série, Número 17, 240-258.
- Decreto-Lei N.º 148/99 de 4 de Maio in **Diário da República**, I Série, Número 103, 2354-2370.
- Decreto-Lei N.º 185/2005 de 4 de Novembro in **Diário da República**, I Série, Número 212,6303-6310.
- Decreto-lei nº 113/2006 de 12 de Junho in **Diário da República**, I-a Série, Número 113, 4143-4148.
- Decisão de Execução da Comissão de 17 de Junho de 2011 in **Jornal Oficial** L161, 29 -33.
- Domingos M, Amado A, Botelho A. (2009) "IS1245 RFLP analysis of strains of *Mycobacterium avium* subspecies *hominissuis* isolated from pigs with tuberculosis lymphadenitis in Portugal" in **Vet. Record** 164, 116-120.
- Dvorska L, Matlova L, Bartos M, Parmova I, Bartl J, Svastova P, Bull TJ, Pavlik I. (2004). "Study of *Mycobacterium avium* complex strains isolated from cattle in the Czech Republic between 1996 and 2000" in **Vet. Microbiology** 99, 239-250.
- Hibiya K, Kasumi Y, Sugawara I, Fujita J. (2007) "Histopathological classification of systemic *Mycobacterium avium* complex infections in slaughtered domestic pigs" in **Comp. Immun Microbiol and Infect Dis.** 31, 347-366.

- Komijn R. E., Wisselink HJ, Rijsman VM, Stockhofe-Zurwieden N, Bakker D, van Zijderveld FG, Eger T, Wagenaar JA, Putirulan FF, Urlings BAP. (2007) "Granulomatous lesions in lymph nodes of slaughter pigs bacteriologically negative for *Mycobacterium avium* subsp. *avium* and positive for *Rhodococcus equi*" in **Vet. Microbiology** 120(3-4), 352-357
- Kumar V., Abbas A. K., Fausto N., Mitchell R. N. (2008) **Robbins Basic Pathology**, 8^aed., Saunders Elsevier, 572.
- Lara G H, et al. (2011). "Occurrence of *Mycobacterium* spp. and other pathogens in lymph nodes of slaughtered swine and wild boars (*Sus scrofa*)". **Research in Vet. Science** 90,185–188.
- Manual de Inspeção sanitária de aves e lagomorfos, capítulo VII – Pesquisa de resíduos, DGV, 2009.**
- Manual do Plano de Aprovação e Controlo de Estabelecimentos**, DGAV/DSHPV, 2012-2016.
- Manual do Plano de Inspeção de Géneros Alimentícios**, DGV/DSHPV/PIGA, 2009.
- Margolis M.J., Hutchinson L.J., Kephart K.B., Hattel A.L., Whitloch R.H., Payeur J.B. (1994) "Results of using histologic examination and acid-fast staining to confirm a diagnosis of swine mycobacteriosis made on the basis of gross examination" in **J. Am. Vet Med. Assoc.** 204(10), 1571-1572.
- Morés N.,Amaral A.L., Ventura L., Silva R.A.M., Silva V.S., Barioni Junior W. (2011) "Comparação entre métodos de tuberculinização no diagnóstico da infeção por agentes do complexo *Mycobacterium avium* ou *M. bovis*, em suínos" in **Revista Técnica de Suinicultura** 3, 30-36.
- Normativo de Colheita de Amostras no Matadouro**, DGV/PNCR, 2011.
- Perestrelo-Vieira R, Sobestiansky J, Barcellos D, Perestrelo-Vieira H. (2000). In **Doenças dos suínos**. 2^a ed. Lisboa, Publicações Ciência e Vida, 324-327.
- Portaria N.º 464/2003, de 6 de Junho in **Diário da República**, I Série – B, Número 131, 3406-3407.
- Portaria n.º 559/76, de 7 de Setembro in **Diário da República**, I Série, Número 210, 2116-2124.
- Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC. (2005) **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas**. Porto Alegre: Editora Artmed, 106-114.
- Radostitis, O.M., Gay, M.E., Hinchcliff, K.W., Constable, P.D (2007) **Veterinary Medicine: A Textbook of the Disease of Cattle, Horses, Sheep, Pigs, Goats and Horses**. WB Saunders, London, 1014-1016.

- Regulamento (CE) n.º 178/2002 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 28 de Janeiro de 2002 *in* **Jornal Oficial das Comunidades Europeias** L31, 1- 24.
- Regulamento (CE) n.º 854/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 29 de Abril de 2004 *in* **Jornal Oficial da União Europeia** L226, 83- 127.
- Regulamento (CE) n.º 853/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 29 de Abril de 2004 *in* **Jornal Oficial da União Europeia** L226, 22- 82.
- Regulamento (CE) n.º 852/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 29 de Abril de 2004 *in* **Jornal Oficial da União Europeia** L226, 3- 21.
- Regulamento (CE) n.º 882/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 29 de Abril de 2004 *in* **Jornal Oficial da União Europeia** L226
- Regulamento (CE) n.º 1881/2006 da Comissão, de 19 de Dezembro de 2006 *in* **Jornal Oficial da União Europeia** L364, 5-24.
- Regulamento (UE) n.º 37/2010 da Comissão, de 22 de Dezembro de 2009 *in* **Jornal Oficial da União Europeia** L15, 1-72.
- Regulamento (CE) n.º 396/2005 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 23 de Fevereiro de 2005 *in* **Jornal Oficial da União Europeia** L70, 1-16.
- Regulamento (CE) n.º 1069/2009 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 21 de Outubro de 2009 *in* **Jornal Oficial da União Europeia** L300, 1-33.
- Regulamento (CE) nº 1441/2007 da Comissão, de 5 de Dezembro de 2007 *in* **Jornal Oficial da União Europeia** L322, 12-29.
- Regulamento (CE) n.º 999/2001 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 22 de Maio de 2001 *in* **Jornal Oficial das Comunidades Europeias** L147, 1-40.
- Regulamento (CE) n.º 2075/2005 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 5 de Dezembro de 2005 *in* **Jornal Oficial das Comunidades Europeias** L338, 60-82.
- Regulamento (CE) nº 2406/96 do Conselho, de 26 de Dezembro *in* **Jornal Oficial** L334, p.1.
- Regulamento (CE) n.º 1022/2008 da Comissão, de 17 de Outubro de 2008 *in* **Jornal Oficial da União Europeia**, L277, 18-20.
- Slana I, Kaevska M, Kralik P, Horvathova A, Pavlik I.(2010). "Distribution of Mycobacterium avium subsp. avium and M. a. hominissuis in artificially infected pigs studied by culture and IS901 and IS1245 quantitative real time PCR". *in* **Vet. Microbiology** 144(3-4), 437-443.
- Takai S, Fukunaga N, Ochiai S, Imai Y, Sasaki Y, Tsubaki S, Sekizaki T. (1996) "Identification of intermediately virulent Rhodococcus equi isolates from pigs" *in* **Journal of Clinical Microbiology** 34(4), 1034-1037.
- Thoen C. O. (1992) "Tuberculosis" *in* **Diseases of swine**. 7ªed. Iowa State University Press, Ames.:617-626.

N.º / 20

**DECLARAÇÃO DO OPERADOR DO SECTOR PRIMÁRIO/CRIADOR DE OVINOS E CAPRINOS
INFORMAÇÃO RELATIVA À CADEIA ALIMENTAR ⁽¹⁾**

1. Identificação do fornecedor:

Nome: Marca de exploração:
 Localização: Telemóvel:
 Caracterização da exploração: NIF:

2. Transporte:

2.1. Declaração de deslocações N.º 2.2. Data de saída da exploração: / / 2.3. Número de animais transportados:

3. Identificação individual dos animais (se aplicável):

.....

4. Destino dos animais transportados

Maradouro de destino NCV ou Centro de Agrupamento Marca

5. Identificação do Médico Veterinário da exploração de proveniência:

Nome: N.º Cartão Profissional:
 Endereços/contactos:

6. Estatuto sanitário dos animais, da exploração e/ou estatuto sanitário regional ⁽²⁾:

.....

7. Medicamentos e outros produtos de uso veterinário administrados aos animais nos últimos seis meses ⁽³⁾:
 (Identificar os produtos ⁽⁴⁾, modo de administração, data de administração e intervalos de segurança)

.....

8. Ocorrência de doenças que possam afectar a segurança da carne ⁽⁵⁾:

.....

9. Exames efectuados para diagnóstico de doenças ou no âmbito de vigilância e controlo de zoonoses e resíduos ⁽⁶⁾:

.....

10. Informação sobre relatórios relevantes de inspecção ante-mortem e post-mortem em animais provenientes da mesma exploração incluindo relatórios do veterinário oficial ⁽⁷⁾:

.....

Declaro que as informações contidas nesta declaração são verdadeiras

Nome: Data: / /

.....
(Assinatura e Carimbo)

⁽¹⁾ Informação que ao abrigo dos Regulamentos N.º 853/2004 e N.º 853/2004 e/ou de 29 de Abril, do Regulamento N.º 3174/2005 de 5 de Dezembro e do Regulamento N.º 1181/2009 de 30 de Novembro, deve ser enviada ao instalador até 24 horas antes da libertação dos animais ou ao competente ao animal para abate directo que se verificarem as condições previstas na lei.
⁽²⁾ Caso o espaço existente neste campo não seja suficiente para o registo de todas as informações necessárias, pode anexar-se outra informação.
⁽³⁾ Sempre que o intervalo de segurança não seja zero ou o produto possa influir na detecção de doenças nos animais

Ministério da Agricultura e do Desenvolvimento Rural

Modelo 249/DGV da Guia de trânsito para abate imediato

Modelo 241-B/DGV do passaporte individual de bovinos

[illegible]

Modelo 253/ DGV da Declaração de deslocações

[illegible]

**Modelo 246/DGV do Destacável
do passaporte de rebanho**

[illegible]

ANEXO II - Mapa de exame em vida (Inspeção sanitária do MBL)

MAPA DE EXAME EM VIDA

DATA: ___ / ___ / ___

HORA: ____:____

[illegible]

MOE= Marca de origem da exploração / MA= Marca auricular

AP = Aprovado / REP= Reprovado

ANEXO III - Declaração veterinária para abate especial de emergência (DGAV. Guia de Boas Práticas - Aptidão para o transporte e abate de emergência. Agosto de 2012)



Ministério da
Agricultura,
do Desenvolvimento
Rural e das Pescas

DGV
Direção-Geral
de Veterinária

DECLARAÇÃO VETERINÁRIA¹
(Abate especial de emergência fora do matadouro)

Proveniência do animal

Nome do produtor:	
Endereço:	
Marca de exploração:	NIF:

Identificação do animal

Espécie:	Raça:	Sexo:
Data de nascimento:	Marca auricular:	

Dados relativos ao abate

Data:	Hora:	Local:
Método do abate:		
Constatações e resultado do exame ante mortem:		

Medicamentos ou outros tratamentos administrados

Medicamento:	Data de administração:	Intervalo de segurança:
Medicamento:	Data de administração:	Intervalo de segurança:

_____, ____ de _____ de 20 ____

O Médico Veterinário

Contacto

OBSERVAÇÃO: O verso contém informações sobre a legislação aplicável

¹ Previsto no nº6, Capítulo VI, Secção I do Anexo III do Regulamento (CE) nº853/2004 de 29 de Abril

ANEXO IV - Protocolo obrigatório de inspeção *post mortem* (Anexo I do Capítulo III B do MANUAL DE INSPECÇÃO SANITÁRIA DE RESES, DGV, 2010)

SISTEMA OU ÓRGÃO		BOVINOS (5)				OVINOS e CAPRINOS	Conforme (1 a 5)	SUÍNOS ⁽⁵⁾	Conforme (1 a 5)	SOLÍPEDES (se aplicável)	Conforme (1 a 5)
		> 6 sem	Conforme (1 a 5)	< 6 sem	Conforme (1 a 5)						
Cabeça	Cabeça e garganta	V		V		V ©		V		V	
	GG submaxilares	I		-		-		I		P (I)	
	GG retrofaríngeos	I		I		(V) ©		-		P (I)	
	GG parótídeos	I		-		(V) ©		-		P (I)	
	Masséteres internos e externos	I		-		-		-		-	
	Boca ⁽¹⁾	V		V		(V) ©		V		V	
	Amígdalas	Remoção		Remoção				Remoção		Remoção	
	Língua	V e P		V e P		(V) ©		V		P	
Respiratório	Traqueia e p. ramos brônquicos	I ©		I ©		V		I ©		I ©	
	Pulmões	P e I ©		P e I ©		P (I)		P e I ©		P e I ©	
	GG brônquicos e mediastínicos	I ©		I ©		P (I)		P		P (I)	
	Pericárdio	V		V		V		V		V	
Coração	Miocárdio	I		I		V (I)		I		I	
	Diáfagma	V		V		V		V		V	
Serosas	Pleura e peritônio	V		V		V		V		V	
Digestivo	Esôfago	V		V		V		V		V	
	Fígado	P e I		P		I		P		P ⁽⁸⁾	
	LN hepáticos	P (I)		P (I)		P		P		P	
	GG pancreáticos	P		V		V		V		P	
	Tracto gastrointestinal	V		V		V		V		V	
	Mesentério	V		V		V		V		V	
	LN gástricos e mesentéricos	P (I)		P (I)		V		P (I)		V (I)	
	Baço	V (P)		V (P)		V (P)		V		V	
	Rins	V (I)		V (I)		V (I)		V		P ⁽⁴⁾	
Urogenital	Genitais ⁽²⁾	V		-		V		V		V	
Gl. mamária	Parênquima e GG supramamários	V (P e I) ⁽⁹⁾		-		V		V ⁽⁶⁾		V	
Carcaça	Região umbilical ⁽³⁾	-		P		P (I)		P		P (I)	
	Articulações ⁽²⁾	-		P		P (I)		P		P	
	Visualização das superfícies externas	V		V		V		V		I ⁽⁷⁾	
Classificação total por espécie											

Legenda: V - Inspeção ou exame visual; P - palpação; I - Incisão ou corte; LN - linfonodos; O-omissão © se consumo humano; parêntesis - apenas se necessário

⁽¹⁾ e remoção de amígdalas em bovinos, solípedes e suínos; ⁽²⁾ excepto pênis, se já removido; ⁽³⁾ nos jovens e pequenos ruminantes

⁽⁴⁾ cavalos brancos ou cinzentos; pesquisa de melanose/melanomas em músculo subescapular e linfonodo subombóide e incisão em toda a extensão dos rins

⁽⁵⁾ inspeção pode resumir-se a exame visual; ⁽⁶⁾ incisão de gânglios nas porcas; ⁽⁷⁾ pesquisa de melanose em equídeos brancos e ruços

⁽⁸⁾ eliminado no caso de animais com mais de 2 anos provenientes de zonas com alto teor de chumbo

⁽⁹⁾ Nas vacas, abertura de cada metade do úbere até aos seios lactíferos e incisão dos ganglios linfáticos se o úbere for destinado ao consumo humano.

ANEXO V - Mapa diário de rejeições (Inspeção sanitária do MBL)

[illegible]

ANEXO VI - Técnicas de coloração (adaptado dos protocolos do Laboratório de Diagnóstico Histopatológico do ICBAS)

GRAM	PAS	ZN
<ol style="list-style-type: none"> 1. Desparafinar, hidratar e lavar; 2. Lavar em água destilada; 3. Corar pelo Violeta de Genciana durante 5 minutos. 4. Lavar em água corrente durante 5 minutos; 5. Corar pelo Lugol durante 2 minutos; 6. Passar pela acetona até eliminar bem o Lugol; 7. Lavar em água corrente; 8. Corar pelo Vermelho Nuclear durante 6 minutos; 9. Lavar rapidamente em água corrente; 10. Passar por álcool absoluto até a coloração ficar rosa; 11. Colocar em Xilol e montar. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Desparafinar, hidratar e lavar; 2. Lavar em água destilada; 3. Oxidar em Ácido Periódico a 10% por 15 minutos; 4. Lavar em água corrente; 5. Corar com o Reagente de Schiff durante 15 minutos; 6. Lavar em água da torneira durante 10 minutos; 7. Corar os núcleos com Hematoxilina; 8. Diferenciar em água corrente; 9. Desidratar, colocar em xilol e montar. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Desparafinar em xilol, hidratar (100%-70%) e lavar em água corrente; 2. Corar com fucsina (Ziehl) e aquecer a lâmina até à libertação de vapores; 3. Escorrer o corante e passar por álcool absoluto; 4. Lavar com água corrente; 5. Diferenciar em HCL a 25% até o corte ficar com um tom rosa claro (1-3 minutos); 6. Lavar em água corrente 5 a 10 minutos; 7. Corar o fundo com azul de metileno 1% até ficar azul; 8. Desidratar (70-100%), colocar em xilol e montar.

ANEXO VII - Técnicas de descontaminação e homogeneização (adaptado do protocolo adotado no INSA)

Técnicas de descontaminação e homogeneização de produtos biológicos para exame direto e cultural de pesquisa de agentes do género Mycobacterium.

Método de descontaminação da N-acetil-L-cisteína sódica (método de Kubica – Referência: Kubica G.P. Dye W.E. Cohn M.L. and Middlebrook G. : “sputum digestion and decontamination with N-acetylcystein – sodium hydroxyde for culture of mycobacteria., Am. Ver. Respir. Dis. 1963, 87, 775.

Reagentes:

Sol. 1- Solução de citrato de sódio (2,94 g/100 ml de água)

Sol.2 – Solução de hidróxido de sódio (4 g/100 ml de água)

Sol. 3 – Solução de trabalho – juntar em partes iguais Sol. 1 e Sol. 2; colocar em frascos de 100 ml e autoclavar 15 min., 120°C; adicionar extemporaneamente 0,5 g de N-acetil-L-cisteína a cada 100 ml de mistura.

Tampão de fosfato pH 6,8 – Adicionar em partes iguais:

Solução NaHPO_4 anidro (9,47 g/1000 ml de água dest.)

Solução KH_2PO_4 anidro (9,07 g/1000 ml de água dest.)

Autoclavar 15 min., 120°C.

Técnica:

- 1- Num frasco cónico de 50 ml colocar 4 ml de Sol. 3
- 2- Adicionar a amostra de produto (~3 mL de expetoração, suco gástrico, secreções brônquicas e lavados brônquicos ou broncoalveolar concentrados por centrifugação)
- 3- Agitar em vortex durante 20 seg.
- 4- Agitar suavemente durante 20 min., à temperatura ambiente. Completar até ao volume final com tampão de fosfato.
- 5- Centrifugar a 3000g durante 15 min.
- 6- Decantar o sobrenadante. Fazer o esfregaço com 1 gota de sedimento.
- 7- Reconstituir com tampão de fosfato ou albumina bovina (~1 ml) e inocular os meios de cultura.